Über Flavin-Synthesen

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

DER NATURWISSENSCHAFTLICHEN FAKULTÄT
DER JOHANN WOLFGANG GOETHE-UNIVERSITÄT
ZU FRANKFURT AM MAIN

vorgelegt von

Karl Reinemund
aus Melsungen

1937

Dissertationsdruckerei F. W. Kalbfleisch, Gelnhausen.

Referent : Professor Dr. W. Borsche.

Korreferent: Professor Dr. R. Kuhn, Heidelberg.

Tag der mündlichen Prüfung : 15. Februar 1937.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meiner lieben Mutter.

Gliederung.

A. Über die B.-Vitamine und besonders über Vitamin B_2 = Lactoflavin.

B. Flavin-Synthesen:

I. Nach der Toluolsulfo-Methode:
1. Darstellung der Base für das 6,8,9-Trimethyl-flavin
2. Synthese des 6,7,9-Trimethyl-flavins oder Lumi-lactoflavins
3. Darstellung des 6,9-Dimethyl-flavins
4. Versuch zur Synthese einer Flavin-dicarbonsäure.

II. Nach der Dinitro-Methode :
1. Umsetzung von 1,2-Dimethl-4-5-dinitro-benzol mit Methylamin — Vereinfachung der Lumiflavin-Synthese.
2. Umsetzung von 1,2-Dimethyl-4-5-dinitro-benzol mit d. Xylamin-Synthese des 6,7-Dimethyl-9-d-xylo-flavins
3. Umsetzung des o-Dinitrobenzols mit d-Xylamin. — Synthese des 9-d-Xylo-flavins.

III. Nach der Nitroäther-Methode:
1. Umsetzung von 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-methoxy-benzol. — Verbesserung der Synthese des 6,7,9-Trimethyl-flavins.
2. Umsetzung von α-Nitro-β-äthoxy-naphtalin mit Methylamin. — Synthese des 5,6-Benzo-9-methyl-flavins.
3. Umsetzung von 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-allyloxy-benzol mit Methylamin und Amino-Äthylalkohol.

IV. Versuch zur Chlorierung von Alloxazin.
Umsetzung von Alloxazin mit Phosphoroxychlorid.

Theoretischer Teil.

A. Über die B.-Vitamine und besonders über Vitamin B_2-Lactoflavin*).

Eine der am längsten bekannten durch Mangel an Ergänzungsstoffen entstehenden Krankheiten ist die Beriberi, die bei den vorwiegend von Reis lebenden Völkern Ostasiens am häufigsten beobachtet wurde. Durch eine entsprechende Diät läßt sie sich auch bei Versuchstieren z. B. Tauben und Ratten hervorrufen. Den vor dieser Erkrankung, bei der nervöse Störungen im Vordergrunde stehen, schützenden Stoff nannte man Vitamin B. Durch die Untersuchungen von Goldberger und Lillie[1]) wurde nun im Jahre 1926 dieser wasserlösliche Ergänzungsstoff in das hitzeempfindliche, eigentliche Antiberiberi-Vitamin und einen thermostabilen Faktor zerlegt, dessen Mangel man als die Ursache der Pellagra ansah. Zur Unterscheidung nannte man den thermolabilen Anteil, der wohl die Lähmungen und Krämpfe zum Verschwinden brachte, die gesamten B-Ausfallserscheinungen wie z. B. schlechtes Wachstum nicht heilen konnte, Vitamin B_1. Die mit dem Namen B_2 belegte thermostabile Komponente zerfiel nun wieder in mehrere Faktoren. Das stillstehende Wachstum junger Ratten, die nach der B_2-armen Bourquin-Sherman Diät ernährt waren, konnte nämlich wie György, Kuhn und Wagner-Jauregg[2]) zeigten, durch einen im autoklavierten Hefekochsaft vorkommenden gelben, grün fluorescierenden Farbstoff nur dann wieder angeregt werden, wenn gleichzeitig auch ein Filtrat, aus dem durch Adsorption an Fullererde der grün fluorescierende Farbstoff entfernt war, gefüttert wurde. Über die Anzahl der in

---

[1]) J. Goldberger u. R. D., Lillie U. S. Publ. Health 37,462; 41,1025.

[2]) P. György, R. Kuhn u. Th. Wagner-Jauregg Naturw. 21,560; (1933).
Kl. Ws. 12,1241 (1933) Z. physiol. Ch. 223,21, 27, 241 (1934).
P. György, W. v. Klaveren, R. Kuhn u. Th. Wagner-Jauregg. Z. physiol. Ch. 223,236 (1934).

*) Ausführl. Darstellg.: H. Rudy: Flavine, Ergänzungsbd. Oppenheimer Handbuch d. Biochemie u. H. Rudy: Vitamine und Mangelkrankheiten.

dieser Flüssigkeit noch vorhandenen Ergänzungsstoffe, unter denen neben Wachstumsfaktoren Schutzstoffe gegen die Pellagra und andere Schädigungen der Haut vorkommen, sowie über die chemischen Eigenschaften und biologischen Wirkungen all dieser Körper kann man noch keine endgültigen Aussagen machen. Auch weiß man nicht, ob in den von Reader dargestellten B_4-Konzentraten einer von diesen Wachstumsfaktoren angereichert ist.

Der oben erwähnte Farbstoff, der sich als ein Wachstumsfaktor der B-Gruppe erwiesen hat, wurde von Kuhn, György und Wagner-Jauregg[3]) hinsichtlich seiner physiologischen Wirkung Vitamin B_2, bezüglich seiner Farbstoffnatur, ein Flavin genannt. Zur selben Zeit stieß man noch auf zwei völlig davon unabhängigen Wegen auf diese Naturfarbstoffe. Ellinger u. Koschara[4]) beobachteten im Intravitalmikroskop an Leber und Niere von Ratte und Maus grüne Fluorescenz und erkannten das ähnliche Verhalten des Farbstoffes der Molke besonders in Bezug auf die p_H-Abhängigkeit der Fluorescenz. O. Warburg und W. Christian[5]) hatten beim Zerlegen des gelben eisenfreien Oxydationsfermentes auch einen grün fluorescierenden Farbstoff erhalten.

Die ersten kristallisierten Präparate wurden von Kuhn, György u. Wagner-Jauregg[6]) aus Eiklar isoliert. (Ovoflavin) Da sich aber die Molke als besonders gute Quelle zur Darstellung des Farbstoffes erwies, so wurde die Bezeichnung Lactoflavin ganz allgemein für das Vitamin gebraucht, während für die ganze Klasse dieser wasserlöslichen Farbstoffe der von Ellinger und Koschara[7]) für die von ihnen aus Molke isolierten Pigmente vorgeschlagene Name Lyochrome gewählt wurde.

Bei der alkalischen Belichtung des Lactoflavins, dem Kuhn, György und Wagner-Jauregg[8]) die Summenformel $C_{17}H_{20}N_4O_6$ erteilen konnten, sowie des von Warburg und Christian aus dem gelben Oxydationsferment erhaltenen

---

[3]) R. Kuhn, P. György u. Th. Wagner-Jauregg B. 66,317, 576, 1577 (1933).
[4]) Ph. Ellinger u. W. Koschara B. 66,315, 808, 1411 (1933).
[5]) O. Warburg u. W. Christian Bioch. Z. 254,441. Naturw. 51,980 (1932).
[6]) R. Kuhn, P. György u. Th. Wanger-Jauregg B. 66,317, 576, 1577 (1933).
[7]) Ph. Ellinger u. W. Koschara B. 66,317, 808 (1933).
[8]) R. Kuhn, P. György u. Th. Wagner-Jauregg B. 66,576, 1034.

Farbstoffs, entstand ein chloroformlösliches Photoderivat[9]) $C_{13}H_{12}N_4O_2$, das von Kuhn u. Wagner-Jauregg[10]) Lumiflavin genannt wurde. In seinen physikalischen und chemischen Eigenschaften zeigte sich noch weitgehende Übereinstimmung mit dem Ausgangsmaterial. Abgesehen von der verschiedenen Verteilung zwischen Wasser und Chloroform und der physiologischen Unwirksamkeit besaß das Abbauprodukt noch das gleiche Absorptionsspektrum und dieselbe Fluorescenz, chemisch dasselbe Reduktions-Oxydationsverhalten gegen Hydrosulfit-Luftsauerstoff.

Die beim Lumiflavin durchgeführte Zeisel-Bestimmung zeigte die Anwesenheit einer N-Methylgruppe[11]) an, die qualitativ als Tetramethylammoniumjodid[12]) nachgewiesen wurde. Da bei der photolytischen Spaltung alle vier acetylierbaren Hydroxyle verschwanden, da aus der Oxydation mit Bleitetraacetat ihre benachbarte Stellung hervorging[13]), und da endlich das als Modell benutzte Tetraoxy-butyl-chinoxalin in derselben Weise photochemisch[14]) reagierte, so konnte es sich bei dieser Umsetzung nur um den Übergang einer normalen Tetraoxy-amyl-gruppe in eine Methylgruppe handeln. Die entstehenden N-Methylflavine mußten infolge ihrer leichteren synthetischen Zugänglichkeit für die Ermittlung der Konstitution sowie als Modellversuche für den späteren künstlichen Aufbau des Vitamins von großer Bedeutung sein. Synthesen solcher Lumiflavine und einiger Zuckerflavine bilden den Inhalt der vorliegenden Arbeit. Ferner wird über eine nach Emil Fischers Vorbild in der Purinreihe auf das Alloxazin übertragene Umsetzung mit Phosphoroxychlorid berichtet.

B. Flavin-Synthesen.

Bei der alkalischen Spaltung[15]) des Lumiflavins erhielt man neben Harnstoff eine blaß gelbe Oxocarbonsäure $C_{12}H_{12}N_2O_3$, die bei ihrem Schmelzpunkt (215°) unter Kohlensäureabgabe in eine

---

[9]) O. Warburg u. W. Christian Naturw. 20,980 Bioch. Z. 257,492 (1933).
R. Kuhn, P. György u. Th. Wagner-Jauregg B. 66,317 R. Kuhn u. Th. Wagner-Jauregg B. 66,1577. R. Kuhn, H. Rudy u. Th. Wagner-Jauregg B. 66,1950.

[10]) R. Kuhn und Th .Wagner-Jauregg B. 66,1577.

[11]) R. Kuhn u. H. Rudy B. 67,1298. R. Kuhn u. H. Roth B. 67,1458.

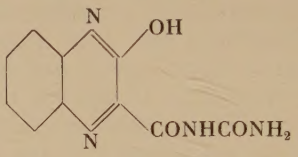
[12]) R. Kuhn u. H. Rudy unveröff. (ref. Angew. Ch. 48,29 (1935).

[13]) R. Kuhn, H. Rudy u. Th. Wagner-Jauregg B. 66,1950 (1933).

[14]) R. Kuhn u. F. Bär B. 67,898 (1934).

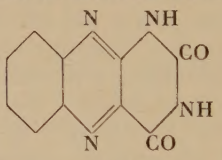
[15]) O. Warburg u. W. Christian Bioch. Z. 258,496; 263,228 (1933).

fast farblose Verbindung vom Smp.: 175° überging[16]). Die Einwirkung von 20%iger Natronlauge auf Lumiflavin sowie die beiden eben genannten Spaltprodukte lieferte eine N-Methylbase $C_9H_{14}N_2$[17]), die in ihren Eigenschaften, wie leichte Zersetzlichkeit, Reaktion mit Eisenchlorid (grün), Verschiebung der Absorptionsbanden bei der Salzbildung nach dem langwelligen Gebiet, an die aromatischen o-Diamine erinnerte. In der Literatur waren nun Kondensationsprodukte von aromatischen o-Diaminen mit Alloxan bereits bekannt. Durch Zusammengießen der wäßrigen Lösungen von Alloxan und o-Phenylendiamin erhielt Hinsberg[18]) das Ureid der 7-Oxy-chinoxalin-6-carbonsäure.



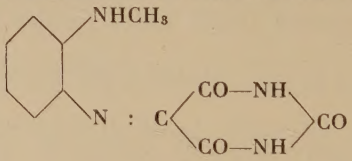
1.

Kühling[19]) konnte dagegen in schwach salzsaurer Lösung zum blaß gelb gefärbten Alloxazin kondensieren.



2.

Das N-Methyl-o-phenylendiamin, in absolutem Alkohol mit Alloxan zusammengebracht, ergab unter Austritt von 1 Mol Wasser einen schwach gelb gefärbten Körper, dem Kühling u. Kaselitz[20]) die folgende Konstitution zuschrieben: (F. 3)

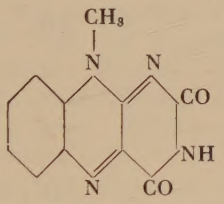


3.

---

[16]) R. Kuhn, H. Rudy u. Th. Wagner-Jauregg B. 66,1950.
[17]) R. Kuhn u. H. Rudy unveröff. ref. Ang. Ch. 48/29 (1935).
[18]) O. Hinsberg A. 292,247.
[19]) O. Kühling B. 24,2364.
[20]) O. Kühling u. O. Kaselitz B. 39,1324.

Beim Erhitzen der Komponenten in verd. HCl wie bei der Alloxazinsynthese beobachteten Kuhn und Weygand[21]) auch hier die Bildung eines um noch 1 H_2O ärmeren Kondensationsproduktes, (F. 4) das in seinen Eigenschaften, wie Farbe Fluorescenz, Verhalten gegen Alkalien, Löslichkeit in verd. Essigsäure, Verteilung zwischen Chloroform und verd. Essigsäure, mit dem natürlichen Lumiflavin große Ähnlichkeit zeigte. Das Alloxan konnte hier in seiner Laktimform mit dem substituierten Diamin nur im Sinne der von Kuhn und Rudy bei den Abbaureaktionen aufgestellten Iso-alloxazin-Struktur (F. 4) reagiert haben, die, wie das Formelbild zeigt, eine Verteilung der beiden Doppelbindungen auf die zwei heterocyklischen Ringe vorsieht.



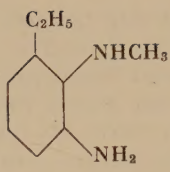
4.

Mit dieser Iso-struktur stand nun die Bildung von Oxocarbonsäuren bei der alkalischen Hydrolyse in gutem Einklang. Aus dem durch Formel 4 gekennzeichneten Grundkörper der ganzen Flavinreihe dem 9-Methyl-iso-alloxazin entstand bei der Spaltung durch Natronlauge eine Substanz, die der von Kuhn u. Rudy aus Lumiflavin erhaltenen Oxocarbonsäure ähnlich war, und die sich mit der schon in der Literatur[22]) bekannten 1-Methyl-2-oxo-1-2-dihydro-chinoxalin-carbonsäure als identisch erwies.

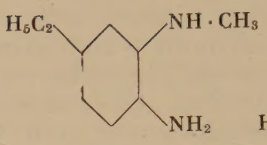
Das Lumi-lactoflavin $C_{13}H_{12}N_4O_2$ war um den Rest C_2H_4 größer als die oben angeführte Stammsubstanz der Iso-alloxazine. In derselben Weise unterschied sich die schon mehrfach erwähnte aus dem Vitamin erhältliche N-Methylbase $C_9H_{14}N_2$ von dem N-Methyl-o-phenylendiamin $C_7H_{10}N_2$. Dieser Rest konnte nun in Gestalt von einer Äthyl- oder zwei Methylgruppen am Benzolkern haften. Im ersten Falle waren daher 4, im zweiten 6 isomere Basen bezw. Farbstoffe denkbar. Für das Lumi-lactoflavin und das ihm zugehörige N-substituierte Diamin ergaben sich damit 10 verschiedene Strukturmöglichkeiten. (F. 5—14)

---

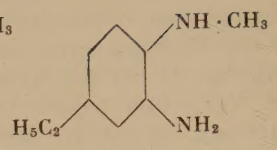
[21]) R. Kuhn u. F. Weygand B. 67,1409.
[22]) O. Kühling u. O. Kaselitz B. 39,1314.



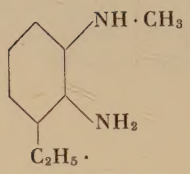
5.



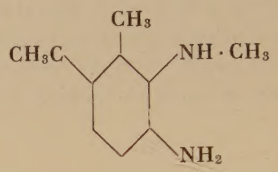
6.



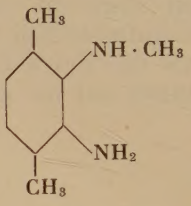
7.



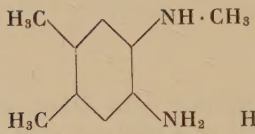
8.



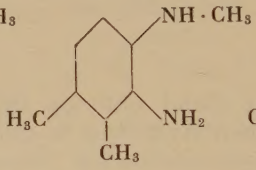
9.



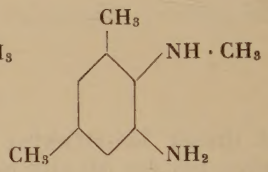
10.



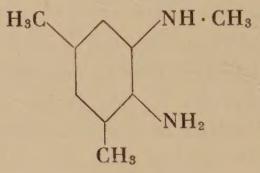
11.



12.



13.

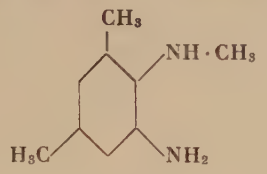


14.

Zur Unterstützung der auf analytischem Wege begonnenen Aufklärung der Konstitution wurden nun Modellversuche zu Hilfe genommen. Da man zunächst im natürlichen Lumiflavin mit großer Wahrscheinlichkeit ein m-Xylolderivat vermutete[23]), so

[23]) Die Bildung v. m.-Xylolderiv. aus Naturprod. ist bekannt; aus Bixin entsteht z. B. durch Destillation m.-Xylol.

versuchte ich das für die Kondensation notwendige 2-Amino-4,6-dimethyl-N-methylanilin zu synthetisieren. (F. 15).

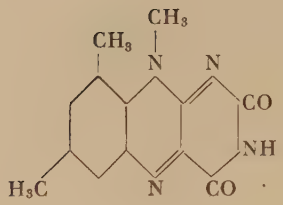


15.

Der Körper war aus der Literatur bekannt[24]). Er wurde dort in schlechten Ausbeuten über das 2-Nitro-4,6-dimethly-methylnitrosamino-benzol gewonnen. Ich schlug den von E. H. Usherwood u. M. A. Whiteley[25]) für die Darstellung des N-Methyl-o-phenylendiamins angegebenen Weg ein. Das durch Nitrieren von asymmetrischem m-Acetxylidid[26]) und Spalten des Reaktionsproduktes mit kochender konz. Salzsäure[27]) dargestellte Nitroxylidin wurde durch Erhitzen mit Pyridin und Toluolsulfochlorid acyliert, durch Schütteln mit Natronlauge und Dimethylsulfat methyliert, und das beim Spalten dieser Verbindung mit einem Gemisch von konz. Schwefelsäure und Eisessig erhaltene 2-Nitro-4,6-dimethyl-N-methylanilin in stark salzsauer Lösung mit $SnCl_2$ reduziert. Durch Eingießen des Reaktionsgemisches in einen Überschuß hochprozentiger Natronlauge wurde die freie Base abgeschieden, die aus ihrer ätherischen Lösung durch Einleiten von trockenem HCl als Chlorhydrat abgeschieden wurde. Das so dargestellte 2-Amino-4,6-dimethyl-N-methylanilin gab aber im Gegensatz zu der grünen Eisenchlorid-Reaktion, die Rudy[28]) bei der von ihm durch Abbau aus dem Vitamin gewonnenen Base erhielt, mit diesem Reagenz eine Rotfärbung. Der ungleiche Ausfall dieser Reaktionen bewies eindeutig die Verschiedenheit der aus dem m-Xylidin dargestellten (F. 15) und der aus dem Naturprodukt bei der alkalischen Spaltung gewonnenen Base. Auch die Identität des Lumi-lactoflavins mit dem 6-8-9-Trimethyl-flavin (F. 16), das aus dem von mir dargestellten 2-Amino-4-6-dimethyl-N-methylanilin (F. 15) bereitet wurde, war damit ziemlich ausgeschlossen.

---

[24]) Joh. Pinnow. u. R. Österreich B. 31,2931, 2932.
[25]) E. H. Usherwood u. M. A. Whiteley Chem. Soc. 123,1084.
[26]) Gabriel Stelzner B. 29,305.
[27]) A. W. Hofmann B. 9,1297.
[28]) unveröff. ref. v. R. Kuhn u. Th. Wagner-Jauregg B. 67, 1770.



16.

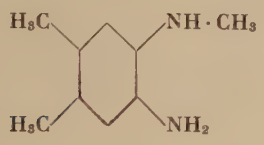
Allerdings mußte man beim Erhitzen mit starkem Alkali auf 130° bis 140°, wodurch die Spaltung des Lumiflavins erreicht wurde, die Möglichkeit einer Umlagerung oder sonstigen Veränderung der dabei entstandenen Base in Erwägung ziehen. Gegen die gleiche Struktur der beiden Iso-alloxazine sprach nun auch die etwas rotstichigere Farbe und orangegelbe Fluorescenz des synthetischen Produktes. (Soweit man diesen von dem Reinheitsgrade abhängigen Eigenschaften, bei den bis dahin noch unvollkommen Reinigungsmethoden, Bedeutung beimessen konnte.) Inzwischen waren nun auch analytische Versuche[29]), welche die Anordnung des Restes C_2H_4 ergründen sollten, beendet. Die am natürlichen Farbstoff und an einer Vergleichssubstanz durchgeführten C-Alkylbestimmungen konnten nun keine Klarheit bringen. Die beim Lumiflavin erhaltenen 0,9 Mole Essigsäure deuteten mehr auf die Anwesenheit von nur einer Gruppe, also in diesem Falle des Äthylrestes, hin. Denn für zwei im Benzolkern haftende Methylgruppen erwartete man einen größeren Wert. Das als Modell benutzte m-Xylidin lieferte bei der Oxydation 1,2 Mole Essigsäure, also 60% der für die zwei Methylgruppen berechneten Theorie, gegenüber 45% beim natürlichen Farbstoff; wenn man auch hier die Anwesenheit zweier solcher Gruppen voraussetzte. Der geringe Unterschied, der durch die Bestimmungen an den beiden Substanzen erhaltenen Werte, die nur 5% unter bzhw. 10% über der für eine Alkylgruppe berechneten Menge Essigsäure lagen, versagte also auf diesem Wege ein weiteres Eindringen in den Aufbau des Moleküls.

Während der Durchführung der soeben geschilderten analytischen Versuche hatte ich nun meine Synthesen fortgesetzt. Die zunächst vom p-Xylidin aus begonnene Darstellung des zugehörigen Flavins gab ich alsbald wieder auf, da mir bei der genauen Durchsicht der Literatur ein anderer Modellversuch für die weitere Erforschung der Struktur des Vitamins wichtiger erschien.

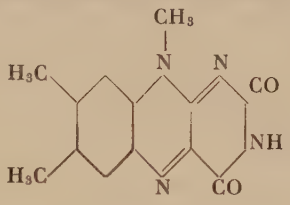
---

[29]) Kuhn u. Roth unveröfftl. Ref. Pregl/Roth Mikroanalyse S. 249.

In den Arbeiten Nölting s[1]) fand ich nämlich, daß von allen isomeren Xylylen-o-diaminen nur das 1,2-Dimethyl-4-5-diaminobenzol sich mit Eisenchlorid grün färbt. Wie aus den früher schon erwähnten Versuchen von Rudy bereits bekannt war, lieferte nun auch die bei der alkalischen Spaltung aus dem Lumiflavin entstandene N-Methylbase dieselbe Farbreaktion. Es schien nun ziemlich sicher, daß in diesem so wichtigen Diamin ein o-Xylolderivat, nämlich 1,2-Dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzol (F. 17) vorlag, wonach für das Lumi-lactoflavin die Konstitution eines 6,7,9-Trimethyl-iso-alloxazins wahrscheinlich wurde. (F. 18)



17.



18.

Die Möglichkeit der Anwesenheit einer Äthylgruppe im Benzolkern der Base bzhw. des natürlichen Farbstoffs, statt der zwei Methylgruppen, ließ sich nicht ganz ausschließen, da über die Äthylphenylendiamine und ihre Eigenschaften fast nichts bekannt war.

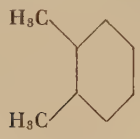
Gegen ein Derivat des Äthylbenzols und für die Gegenwart zweier Methylgruppen sprach nun die Beobachtung, daß bei den Eisenchlorid-Reaktionen der Xylylendiamine anstelle der üblichen rot bis braunroten Färbung nur dann ein blaugrüner Farbton auftrat, wenn beide p-Stellungen zu den Stickstoffatomen durch Methylreste besetzt waren. Andererseits mußte man die Möglichkeit erwägen, ob nicht ein größerer in einer p-Stellung befindlicher Rest genügen würde, um die Änderung dieser Farbreaktion zu bewirken. (Erst viel später ergab sich bei Versuchen die Bestätigung dieser Vermutung, denn an dem 2-Amino-3,4-benzo-N-methylanilin konnte ich trotz einer freien p-Stellung eine blaugrüne Färbung beobachten).

Zur Klärung all dieser Fragen und zur endgültigen Erkennung der Struktur des Lumiflavins, begann ich mit der Synthese des noch unbekannten 1,2-Dimethyl-4-amino-5-methyl-aminobenzols. (F. 19—28).

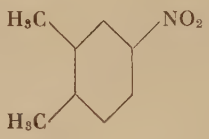
Aus dem als Ausgangsmaterial dienenden o-Xylol wurde zunächst nach Croßley u. Renouff[30]) das 4-Nitroprodukt dar-

[1]) E. Nölting u. G. Thesmar B 35, 636—637.
[30]) A. W. Crossley u. N. Renouf Chem. Soc. 95,207, 216.

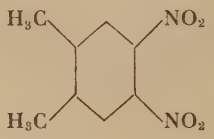
gestellt, das nach Nölting und Thesmar[31]) zum 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-amino-benzol verarbeitet wurde. Die weitere Synthese, über die im experimentellen Teil ausführlich berichtet wird, verlief nach der schon beim m-Xylolderivat angegebenen Methode in guten Ausbeuten. Der nach der oben genannten Kondensation entstandene Farbstoff, über den in einer vorläufigen Mitteilung[32]) berichtet wurde, erwies sich in allen Eigenschaften, wie Farbe, Fluorescenz, Löslichkeit, Verteilung zwischen verdünnter Essigsäure und Chloroform, Verhalten gegen Hydrosulfit, Bildung einer roten radikalartigen Zwischenstufe bei der Reduktion in mineralsaurer Lösung mit dem Naturprodukt, als identisch. Der Schmelzpunkt des synthetischen (320—321°) und natürlichen (321—322°) Farbstoffs, sowie der Mischschmelzpunkt stimmten überein (320—321°). Das durch Kondensation mit Methylalloxan gewonnene 3,6,7,9-Tetramethylflavin (Smp. 291°) war mit dem von Kuhn und Rudy erhaltenen Einwirkungsprodukt von Dimethylsulfat auf Lumi-lactoflavin (beide 291°, Gem. 291°) identisch.



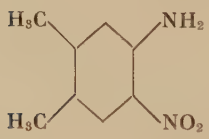
19.



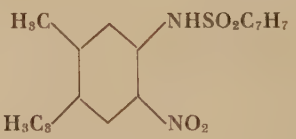
20.



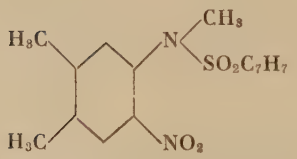
21.



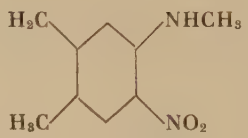
22.



23.



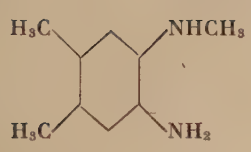
24.



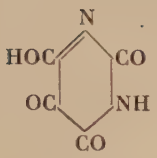
25.

[31]) E. Nölting u. G. Thesmar B. 35,631.

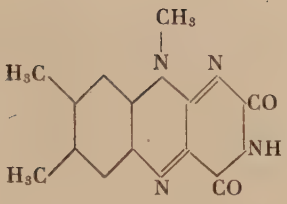
[32]) R. Kuhn, K. Reinemund u. F. Weygand B. 67,1460. Teile der Synthese wurden gemeinsam mit F. Weygand durchgeführt.



26.



27.



28.

Auch die bei der alkalischen Spaltung (mit schw. NaOH) erhaltenen Oxocarbonsäuren (synth. Smp.: 204° natürl. Smp.: 205° Gem. Smp.: 204,5°) und Sublimationsprodukte (synth. Smp.: 167 bis 168° natür. Smp.: 169—170° Gem. Smp.: 168—169°) zeigten keine Unterschiede. Einen weiteren Identitätsbeweis lieferte der Vergleich des von mir aus o-Xylol dargestellten 1,2-Dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzols, durch dessen Kondensation mit Alloxan wie schon erwähnt der Farbstoff entstanden war, mit der von K u h n und R u d y aus dem Vitamin gewonnenen Base. Die beiden Substanzen stimmten in ihren Schmelz- und Mischschmelzpunkten (79—80°), sowie der schon vorher beschriebenen Eisenchlorid-Reaktion (blaugrün) überein. Auch die Dichlorhydrate (F. 26) des synthetischen und des aus dem Naturprodukt stammenden Diamins zeigten denselben Zersetzungspunkt (180 bis 185°).

Für das Lumi-lacto,flavin, die Farbstoffkomponente des Vitimins B_2, war somit auf diesem von mir eingeschlagenen Weg der Synthese die Konstitution eines 6,7,9-Trimethyl-iso-alloxazins (6,7,9-Trimethyl-flavins) mit aller Sicherheit bewiesen.

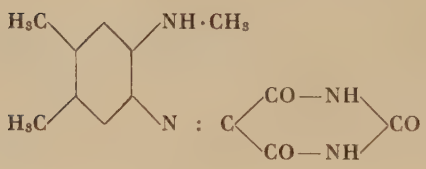
Die bisherigen Angaben über die Eigenschaften des synthetischen Farbstoffs bezogen sich auf ein aus 50prozentiger Essigsäure umkristallisiertes Produkt. Ich fand nun nach der genauen Durcharbeitung der Synthese*), daß zur Reinigung des Lumiflavins, sowie vieler andrer Körper der Flavin- und Alloxazinreihe, das Umkristallisieren aus Ameisensäure ganz besonders geeignet ist. Viele früher schlecht stimmende Analysen ergaben, bei den nach dieser Methode gereinigten Präparaten, genaue Resultate. Das aus Ameisensäure umkristallisierte 6,7,9-Trimethyl-flavin zeigte bis 360° erhitzt keinen Schmelzpunkt mehr[33]). Nach diesem Reinigungsverfahren wurde sowohl das synthetische als auch das natürliche Lumiflavin erstmalig in reinem Zustand er-

[33]) Die nachträglich auskristallisierenden, weniger reinen Produkte zeigten ebenfalls Zersetzungspunkte.

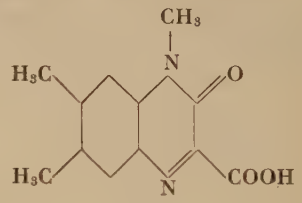
*) R. Kuhn u. K. Reinemund B 67, 1932.

halten. Das am synthetischen Farbstoff gemessene Redoxpotential betrug bei p_H 7 und 20°—0,21 Volt. (Lactoflavin — 0,185 Volt)[34]).

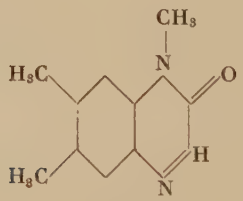
Da der alkalische Abbau der Flavine, von dem schon im vorhergehenden berichtet wurde, nicht mit guten Ausbeuten verlaufen war, und um von den hierbei entstandenen Spaltstücken Oxocarbonsäure und Sublimat eine größere Menge zur Erzielung eines höheren Reinheitsgrades zu bekommen, wurde ein Teil des 1,2-Dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzols (F. 26) nach Kühling[35]) in absolutem Alkohol mit Alloxan zum Alloxanyl-1,2-dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzol kondensiert. (F. 29). Beim Kochen mit 2n Natriumcarbonatlösung entstand daraus in guter Ausbeute die 1-Methyl-2-oxo-6,7-dimethyl-1,2-dihydrochinoxalin-3-carbonsäure (F. 30) Smp.: 214°.



29.



30.



31.

Die so dargestellte Oxosäure (F. 30) sowie das aus ihr beim Erhitzen erhaltene 1-Methyl-2-oxo-6,7-dimethyl-1,2-dihydro-chinoxalin (F. 31) Smp.: 176° zeigten keine Unterschiede gegenüber den aus dem natürlichen Lumiflavin gewonnenen reinen Abbauprodukten, die in ihrer Konstitution also ebenfalls auf synthetischem Wege endgültig erkannt wurden. (Der Unterschied von

[34]) Über Redoxpotentiale d. Flavine: R. Kuhn u. P. Boulanger B 69, 1557.

[35]) O. Kühling u. O. Kaselitz B. 39,1324.

10° bzhw. 6° der gefundenen Schmelzpunkte, gegenüber den bei der vorläufigen Mitteilung über das synthetische Lumiflavin angegebenen, erklärt sich aus dem verschiedenen Reinheitsgrad.)

Da bei dem aus Eiklar gewonnenen Ovoflavin eine Fraktion Analysenwerte ergab, die besser auf C_{16} als C_{17} stimmten[36]), und man annahm, daß es sich hier um ein Flavin handeln könnte, das im Benzolkern eine Methylgruppe weniger besaß, habe ich versucht, einen solchen Lumifarbstoff darzustellen. Das entsprechende 4-Methyl-2-amino-1-methylamino-benzol bzhw. das Chlorhydrat desselben, war in dem Schrifttum schon erwähnt. Es wurde dort durch reduktive Spaltung[37]) eines Azofarbstoffs und aus der zugehörigen Nitrobase[38]) durch Reduktion mit $SnCl_2$ und HCl gewonnen.

Da mir das 4-Methyl-2-nitro-1-amino-benzol zur Verfügung stand, so benutzte ich wieder das zum Aufbau der beiden anderen Flavine gebrauchte Verfahren. Die dabei auftretenden Zwischenprodukte waren aus der Literatur bekannt[39]). Die Toluol-sulfo-

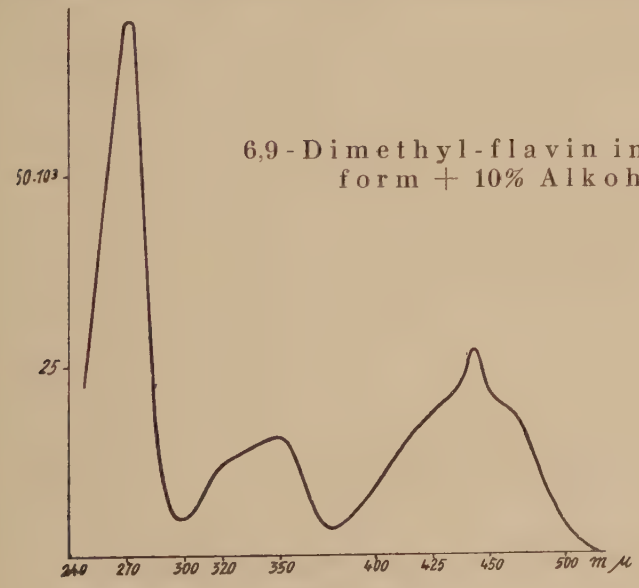
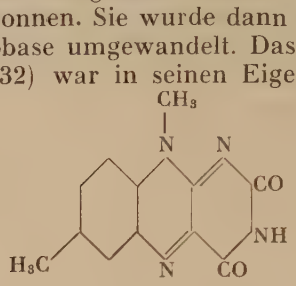


Abb. 1

[36]) R. Kuhn, P. György u. Th. Wagner-Jauregg B. 66,317.
[37]) E. Bamberger u. P. Wulz B. 24,2082.
[38]) L. Gattermann B. 18,1487 u. O. Fischer B. 26,194.
[39]) F. Ullmann u. B. Groß B. 43,2698.

Verbindung wurde dort umgekehrt durch Nitrieren des p-Toluolsulfo-p-toluidids gewonnen. Sie wurde dann in der gleichen Weise in die N-Methylnitrobase umgewandelt. Das so synthetisierte 6,9-Dimethyl-flavin (F. 32) war in seinen Eigenschaften wie Farbe,



32.

Fluorescenz, kein Schmelzpunkt der reinen Substanz, dem Lumilactoflavin sehr ähnlich.

Das angeführte Absorptionsspektrum (Abb. 1) ist im wesentlichen mit dem des 6,7,9-Trimethyl-flavins identisch.

In den Redoxpotentialen der beiden Farbstoffe zeigte sich dagegen ein größerer Unterschied :

p_H 4,7 und 20°

6,7,9-Trimethyl-flavin	6,9-Dimethyl-flavin
$E'_0 = -0{,}089$ Volt	$E'_0 = -0{,}059$ Volt

Die Erforschung des Lumi-ovoflavins war noch nicht so weit gediehen, daß ein Vergleich mit dem synthetischen Produkt möglich gewesen wäre.

Bei der Isolierung von Lyochromen aus Harn konnte Koschara[40]), als er das Farbstoffkonzentrat im Chromatogramm entwickelte, neben Uroflavin, das dem Pigment der Molke sehr ähnlich ist, eine kleine Farbstoff-Fraktion (Aquoflavin) abtrennen, die bei der Belichtung ein chloroformunlösliches Lumiflavin gab. Kuhn und Rudy[41]) haben die Möglichkeit erörtert, daß dieses eine Flavincarbonsäure ist. Bei der Einwirkung von Kaliumpermanganat auf natürliches Lumi-lactoflavin beobachteten sie nämlich die Bildung eines chloroform-unlöslichen Farbstoffes, der noch gleiche Farbe und Fluorescenz zeigte und es ist bekannt, daß auch der Tierkörper Methyl zu Carboxyl oxydieren kann (Toluol zu Benzoesäure u. a.). Die Wiederholung der Oxydationsversuche am synthetischen Lumiflavin führte ich zunächst durch Einwirkung von Kaliumpermanganat in heißer schwefelsaurer Lösung aus. Das nach dem im experimentellen Teil angegebenen Aufarbeitungsverfahren erhaltene Produkt erwies sich im wesentlichen als un-

[40]) W. Koschara B. 67,761. Z. physiol. Chem. 232,101.
[41]) R. Kuhn u. H. Rudy B. 68,300.

verändertes Ausgangsmaterial. In Anlehnung an Versuche von Ullmann[42]) am Acetyl-o-toluidin nahm ich die Oxydation zur Einhaltung neutraler Reaktion bei Gegenwart von Magnesiumsulfat vor. Die Aufarbeitung wurde abgeändert. Da man inzwischen die völlige Unlöslichkeit dieser Farbstoffe in Chloroform erkannte, wurde durch erschöpfendes Ausschütteln mit diesem Lösungsmittel das überschüssige Ausgangsmaterial entfernt. Der in der wässrigen Lösung befindliche Farbstoff zeigte ähnliche Eigenschaften wie das von Koschara[43]) beschriebene Aquolumiflavin.

II. Dinitro-Methode.

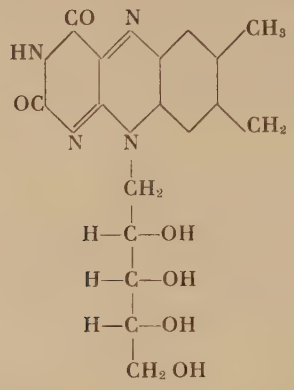
Zur Synthese der bis jetzt dargestellten N-Methyl-flavine bediente ich mich, wie schon erwähnt, der Toluolsulfo-Methode. Die zahlreichen Zwischenstufen des Aufbaues, die schwere Zugänglichkeit mancher Nitrobasen und die nicht immer vollständig verlaufenden Methylierungen zwangen mich, nach besseren Verfahren zur Darstellung der N-substituierten o-Nitrobasen zu suchen. Das zur Synthese des Lumiflavins nötige Nitroxylidin erhielt ich nach Nölting[44]) durch Einwirkung von alkoholischem Ammoniak unter Druck auf ein Gemisch von 1,2-Dimethyl-4-5-dinitro- und 1,2-Dimethyl-4,6-dinitro-benzol. Die glatte Reaktion des anwesenden o-Dinitrokörpers brachte mich auf den Gedanken, diese Umsetzung ganz allgemein zum Aufbau der für die Flavinsynthesen nötigen substituierten Basen nutzbar zu machen. In der Literatur fanden sich nun neben den zahlreichen Beispielen der Einwirkung von Ammoniak auf Di- und Polynitrokörper, die alle zu nennen, mir der Rahmen der Arbeit nicht gestattet, einige Angaben über die Umsetzung mit Methylamin so z. B.: 1,2,4-Trinitrobenzol[45]) 3,4,6- u. 2,3,4-Trinitro-toluol[46]) mit Methylamin und Dimethylamin, 2,3,5-Trinitro-1,4-dimethyl-benzol mit Methylamin und Äthylamin[47]).

Durch Einwirkung von Methylamin auf 1,2-Dimethyl-4-5-dinitro-benzol erhielt ich die schmelzpunktreine Nitrobase in 88% Ausbeute. Diese Methode erwies sich nun auch als geeignet zur

---

[42]) F. Ullmann u. B. Uzbachian B. 36,1797.
[43]) W. Koschara B. 67,761 Z. physiol. Chem. 232,101.
[44]) E. Nölting u. G. Thesmar B. 35,631.
[45]) P. F. Frankland, F. Challanger u. N. A. Nicholls Soc. 115,159 C 1919,319.
[46]) O. L. Brady u. W. H. Gibson Soc. 119,98.
[47]) J. J. Blanksma R. 24,49.

Darstellung der N-Pentityl-o-nitrobasen, die nach den bis dahin versuchten Umsetzungen der Zuckeramine mit den o-Nitrohalogenkörpern[48]) und der Toluolsulfo-Verbindung des Nitroxylenols[49]) nur in schlechter Ausbeute entstanden. Nach diesem Verfahren, das sich wie erwähnt, aus den von mir durchgeführten Vorarbeiten



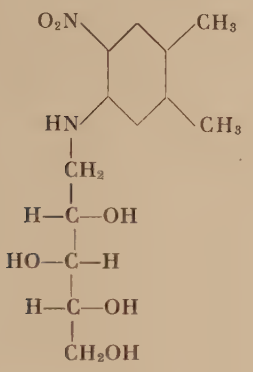
33.

ergab, gelang nun die Synthese des 6,7-Dimethyl-9-d-ribo-flavins[50]), das sich mit dem Vitamin B_2=Lactoflavin als identisch erwies. Die gleiche Übereinstimmung mit dem Naturprodukt zeigte ein von P. Karrer[51]) über andere Zwischenkörper dargestelltes Präparat. Auch der Aufbau weiterer dem Vitamin isomerer Farbstoffe, wie 6,7-Dimethyl-9-d u. l-arabo-flavin und solcher Iso-alloxazine, bei denen sowohl der aromatische Kern als auch die zuckerähnliche Seitenkette variiert wurden, z. B. 9-d u. l-Arabo-flavin, 9-d-Gluco-flavin, 6,7-Dimethyl-9-d-gluco-flavin bereitete nach dieser Methode keine Schwierigkeiten. Ebenso leicht ließen sich auf dem Wege über die N-Pentityl-o-nitrobasen durch Kondensation mit Methylalloxan die 3-Methylderivate der oben genannten Farbstoffe gewinnen. Über die Synthesen der vorstehend aufgeführten Substanzen wurde in der Literatur von Kuhn und Weygand[52]) und in einer soeben erschienenen Dissertation[53]) berichtet.

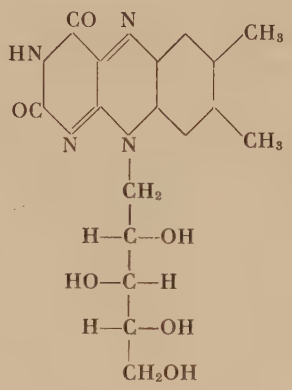
---

[48])[49]) R. Kuhn u. F. Weygand B. 67,1939, 2084 B. 68,166.
[50]) R. Kuhn, K. Reinemund, F. Weygand u. R. Ströbele B. 68,1765.
[51]) P. Karrer, K. Schöpp, F. Benz Helv. Chim. Acta 18,426. H. v. Euler, P. Karrer, M. Malmberg, K. Schöpp, F. Benz u. P. Becker Helv. Chim. Acta 18,522.
[52]) R. Kuhn u. F. Weygand B. 68,166, 1001, 1282.

Zur Prüfung der physiologischen Wirksamkeit und der optischen Aktivität im Vergleich zum Lactoflavin stellte ich das dem Vitamin isomere 6,7-Dimethyl-9-d-xylo-flavin und das 9-d-Xyloflavin dar. (F. 35 u. 37.)



34.



35.

Aus dem 1,2-Dimethyl-4,5-dinitro-benzol entstand mit d-Xylamin[54]) das 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-d-xylamino-benzol (F. 34) mit einer Ausbeute von 82% (auf Dinitrokörper ber.).

Infolge der größeren Löslichkeit und geringeren Kristallisationsfähigkeit des Benzolderivates konnte ich nur 56% der Theorie an 1-Nitro-2-d-xylamino-benzol gewinnen (F. 36). Die Kondensation wurde nach der von Kuhn u. Weygand[55]) mitgeteilten, abgeänderten Weise unter Zusatz von Borsäure in Eisessig vorgenommen. Das erhaltene 6,7-Dimethyl-9-d-xylo-flavin (F. 35) schmolz nach dem Umkristallisieren aus verd. Essigsäure bei 277 bis 278°.

Im Tierversuch rief das Präparat an jungen, B_2-arm ernährten Ratten vorübergehendes Wachstum hervor, das aber geringer und unregelmäßiger war, als das durch das isomere Vitamin B_2 bewirkte. (Abb. 2).

---

[53]) F. Weygand Frankfurt a./M. Febr. 1936.
[54]) Roux Ann. Chim. et Phys. (18) I.,161.
[55]) R. Kuhn u. F. Weygand B. 68,1282.

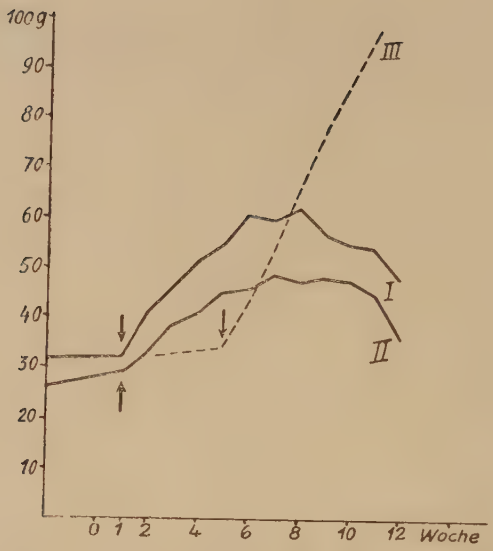


Abb. 2

Die Kurven I. und II. stellen die nach einer täglichen Dosis von 50 γ 6,7-Dimethyl-9-d-xylo-flavin, im Vergleich dazu III, die nach einer täglichen Gabe von 7—8 γ 6,7-Dimethyl-9-d-ribo-flavin, beobachtete Gewichtszunahme dar. Die Verschiedenheit des durchschnittlichen, wöchentlichen Wachstums (5 bzw. 3 g. bei I u. II gegenüber 10 g bei III) kommt in der Abbildung deutlich zum Ausdruck. Von dem biologischen Verhalten des Vitamins abweichend war, der nach 6—7 Wochen eintretende Wachstumsstillstand, und der kurze Zeit darauf erfolgende Gewichtsverlust. Das Vertauschen von einer OH-Gruppe und einem H-Atom in 3-Stellung der zuckerähnlichen Seitenkette genügte also, um im 6,7-Dimethyl-9-d-xylo-flavin einen Körper von einer so verschiedenen physiologischen Wirkung entstehen zu lassen.

Auch nach dem Reinigen des Flavins durch Extrahieren mit absolutem Alkohol zeigte, wie aus Tabelle I ersichtlich, dies weiterhin Wachstumswirkung.

6,7-Dimethyl-9-d-xylo-flavin 50 γ pro Tag:

I.

0	1	2 Woche
32	34	38,5 g.
44,5	47	47,5 g.
32,5	35	40 g.

Nach dieser Reinigung aus Alkohol stieg der Schmelzpunkt auf 287—288°, der von Karrer[56]) für ein auf anderem Wege erhaltenes Präparat mit 278—280° angegeben wurde.

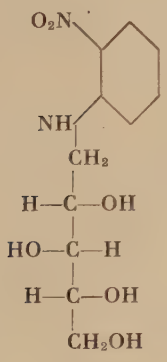
Die gefundene Drehung stimmte bei ungefähr gleicher Konzentration innerhalb der Fehlergrenze mit der des Lactoflavins überein.

Lactoflavin n/10 NaOH	6,7-Dimethyl-9-d-xylo-flavin n/10 NaOH
c=0,251 $[\alpha]_D^{23^0} = -111^0$	c=0,317 $[\alpha]_D^{20^0} = -105^0 \pm 3^0$

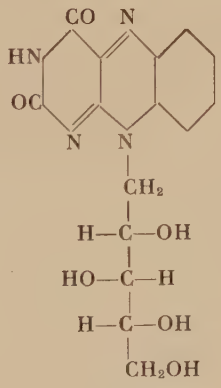
Auch die Umkehrung des Drehungssinnes bei Zusatz von 1 Vol. gesättigter Boraxlösung war zu beobachten. Die gefundene Rechtsdrehung war nur wenig kleiner als bei dem Lactoflavin. Die Konzentrationsabhängigkeit des Drehungsvermögens gestattete ebenso keine sichere Unterscheidung.

Lactoflavin n/10 NaOH	6,7-Dimethyl-9-d-xylo-flavin n/10 NaOH
c=0,251 $[\alpha]_D^{21^0} = -112^0$	c=0,106 $[\alpha]_D^{20^0} = -105^0 \pm 3^0$
c=0,125 $[\alpha]_D^{21^0} = -93^0$	c=0,317 $[\alpha]_D^{20^0} = -95^0 \pm 10^0$

Das 9-d-Xylo-flavin (F. 37) war biologisch vollkommen unwirksam (Tabelle II) und heller gefärbt als der die beiden Methylgruppen enthaltende Farbstoff.



36.



37.

9-d-Xylo-flavin 50 γ pro Tag

---

[56]) H. v. Euler, P. Karrer, M. Malmberg, K. Schöpp, F. Benz, B. Becker u. P. Frei Helv. Chim. Acta 18,522.

II.

0	1	2 Woche
29,5	30,5	29,5 g.
31,5	34,5	32 g.
31	32,5	32,5 g.

Die Bestimmung der Drehung in n/10 NaOH ergab:
$c = 0{,}183$ $[\alpha]_D^{21^0} = -25^0 \pm 3^0$
Nach Verdünnen mit 1 Vol. gesättigter Boraxlösung wurde abgelesen: $\pm 0{,}01^0$ $[\alpha]_D^{21^0} = 0^0 \pm 10^0$.

Die Dinitro-Methode, welche die beiden hier angeführten Flavine in so glatter Weise lieferte, hatte nun zwar den Nachteil, daß die bei der Reaktion entstandene salpetrige Säure 1 Mol Amin zerstörte. Da man aus diesem Grunde auf 1 Mol Dinitro-Körper 2 Mol Amin anwenden mußte, so betrug die Ausbeute auf diesen Reaktionsteilnehmer berechnet nur ca. 40%. Demgegenüber kam aber der Umsetzung der Dinitro-Körper, neben ihrer Anwendungsmöglichkeit bei vielen Aminen, besonders für die ganze Entwicklung der Flavinsynthese eine große Bedeutung zu. Erhielt man doch auf diese Weise die ersten wohldefinierten, analysierbaren o-Nitrotetraoxy-amyl-aniline, durch die man eine Kontrolle über die Ausbeuten bei der Farbstoffbildung bekam. Man erkannte, daß neben der mangelhaften Reaktionsfähigkeit der o-Nitro-halogen-Körper, und der Toluolsulfo-Verbindung des Nitroxylenols, auch die in besonderen Fällen schlecht verlaufende Kondensation zum Flavin, für die bei den ersten synthetischen Versuchen erhaltenen geringen Mengen Farbstoff verantwortlich war. Bei der von mir durchgeführten ausführlichen Synthese des 6,7,9-Trimethylflavins machte sich noch keine Störung bemerkbar. Ersetzte man aber das am Stickstoff befindliche Methyl durch eine Tetraoxyamyl-Gruppe, so sanken die Ausbeuten unter 10%. Die Kondensation wurde sowohl durch die zuckerartige Seitenkette als auch durch die Methylgruppen am Benzolkern gestört. Andere Substituenten wie die Nitro-Gruppe machten sogar die Bildung der 9-Methyl-flavine unmöglich, wie Herr A. H. Cook[57])[58]) fand. Durch Zusatz von Borsäure ließ sich, wie er zeigte, die Ausbeute an Fla-

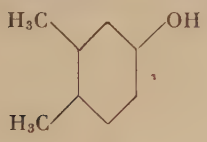
[57]) Kuhn u. Cook unveröff.

[58]) 2 in Orthostellung zu den beiden Stickstoffatomen befindliche Methylgruppen scheinen nach von mir ausgeführten unv. Versuchen auch bei Gegenwart von Borsäure die Flavinbildung zu verhindern.

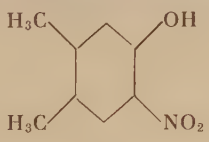
vin erheblich steigern. Diese Methode wurde von K u h n u. W e y g a n d auf die Farbstoffe mit zuckerähnlicher Seitenkette übertragen. Neben den von C o o k durchgeführten Modellversuchen, war also die Dinitro-Methode entscheidend für die Ausgestaltung der Flavin-Synthesen.

III. N i t r o ä t h e r - M e t h o d e.

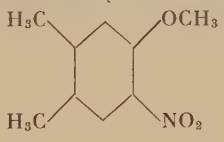
Die oben erwähnte Umsetzung des o-Dinitro-Körpers mit Methylamin ermöglichte nun eine Vereinfachung der Lumiflavinsynthese. Da das m-Produkt nicht reagierte, so konnte man das Amin direkt auf das bei der Nitrierung des 4-Nitro-1,2-dimethylbenzols entstehende Gemisch von 1,2-Dimethyl-4,5-dinitro- und 4,6-dinitro-benzol einwirken lassen. Auf diese Weise wurde das Methylieren der Toluolsulfoverbindung überflüssig und man konnte gegenüber der ersten Darstellung des Lumiflavins die Zahl der Stufen um 3 vermindern. Da das Gemenge der beiden Dinitrokörper und besonders das reine über Nitroxylidin und o-Nitro-nitroso-o-xylol dargestellte 1,2-Dimethyl-4,5-dinitro-benzol in schlechter Ausbeute aus o-Xylol erhalten wurde, so war ich bestrebt, vom käuflichen[59]) billigen 1,2-Dimethyl-4-oxy-benzol aus eine Synthese des 6,7,9-Trimethyl-flavins durchzuführen. (38-43).



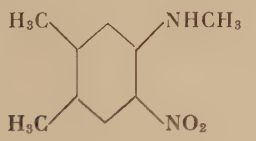
38.



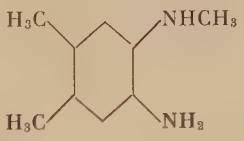
39.



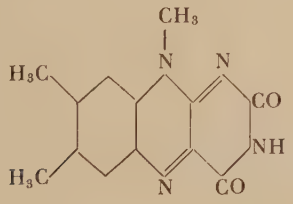
40.



41.



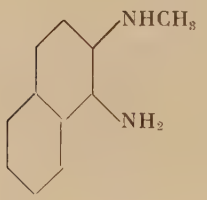
42.



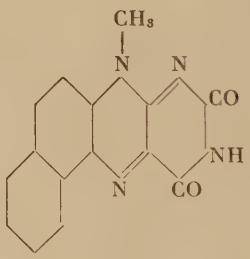
43.

[59]) Ges. für Teerverwertung Duisburg-Meiderich.

Die zunächst versuchte Einwirkung von alkoholischer Methylaminlösung (33%) auf 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-oxy-benzol, aus dem Diepolder[60]) durch Erhitzen mit konz. wässrigem Ammoniak und Ammonchlorid das Nitroxylidin in 42% Ausbeute erhielt, verlief erfolglos. Auch die Toluolsulfoverbindung des Nitroxylenols, die erstmalig von Kuhn und Weygand[61]) für die Synthese von Flavinen mit hyderoxylhaltiger Seitenkette herangezogen wurde, zeigte sich nicht geeignet zur Umsetzung mit Methylamin. Als ich dagegen 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-methoxy-benzol mit der Aminlösung erhitzte[62]), entstand die schmelzpunktsreine Nitrobase in einer Ausbeute von 85% der Theorie. Durch diese so gut verlaufene Umwandlung des Nitroäthers wurde nun das Lumi-lactoflavin leicht zugänglich. Die Nitrierung des Xylenols führte ich nach Diepolder aus[63]). Sie bildete die am wenigsten ertragreiche Stufe der neuen Synthese (38—43) des 6,7,9-Trimethylflavins. Infolge der großen Empfindlichkeit des freien 1,2-Dimethyl-4-oxy-benzols gegenüber Salpetersäure und der Möglichkeit der Bildung eines Dinitrokörpers schwankten die Ausbeuten zwischen 25 und 35% (Mononitroprodukt) Das 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-methoxy-benzol war wohl aus der Literatur[64]) bekannt, aber die dort nur flüchtig beschriebene Darstellung der Verbindung, die Methylierung mit Natronlauge und Dimethylsulfat, verlief bei der Nachprüfung sehr unvollständig.



44.



45.

---

[60]) Diepolder B. 42,2916.
[61]) R. Kuhn u. F. Weygand B. 68,166.
[62]) In Anlehnung an Versuche in der Kresolreihe von O. Fischer u. M. Rigaud B. 34,4207 B. 35,1259.
[63]) Diepolder B 42, 2916.
[64]) J. C. Cain u. J. L. Simonssen Soc. 105,163.

Durch Erhitzen des scharf getrockneten Natriumsalzes[65]) mit Dimethylsulfat und Toluol bekam ich dagegen den Nitroäther in ca. 90% Ausbeute. Durch Umsetzung mit Methylamin erhielt ich das für die Darstellung des Lumiflavins nötige 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-methylamino-benzol in der schon erwähnten guten Ausbeute.

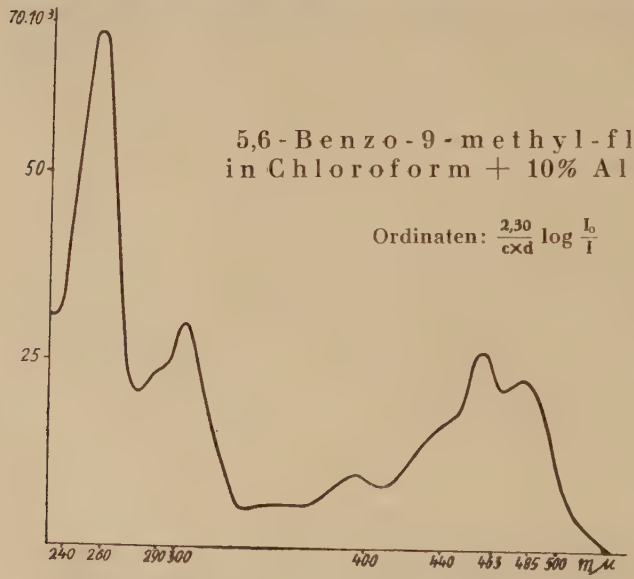
Wenn man bei der Nitrierung nur einen Ertrag von 25% annimmt, so werden unter Berücksichtigung der Ausbeuten in den drei Stufen bis zu der den beiden synthetischen Wegen gemeinsamen Nitrobase aus 100 g des billigen Xylenols 27,5 g schmelzpunktsreine Substanz erhalten. Bei dem vom o-Xylol ausgehenden, über sechs Teilreaktionen verlaufenden Aufbau entstanden im Gegensatz dazu nur ca. 4 g des gleichen Körpers in noch unreinem Zustande. Dieses schlechtere Ergebnis war auf die Verluste bei den Nitrierungen zurückzuführen, die für die Gewinnung der ersten beiden Zwischenkörper angewandt wurden. Neben den besseren Ausbeuten und der kleineren Anzahl präparativ einfacher Reaktionsstufen, kam vor allem der größeren Reinheit des nach dem Nitroäther-Verfahren hergestellten 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-methylamino-benzols Bedeutung zu. Bei den Präparaten, die nach der Toluolsulfo-Methode gewonnen waren, störte besonders die Anwesenheit nicht methylierter Base, wodurch das aus solchen Produkten bereitete Flavin mit Alloxazin verunreinigt war, das sich nicht abtrennen ließ. Bei der ersten Synthese des 6,7,9-Trimethyl-iso-alloxazins war die methylierte Toluolsulfo-Verbindung nur sehr schwer schmelzpunktsrein zu bekommen. Die Nitrobase konnte man zwar leichter reinigen; aber es bedurfte zur Erzielung einheitlicher Substanz mehrmaligen, zum Teil verlustreichen Umkristallisierens. Demgegenüber konnte aus dem Nitroäther mit Methylamin nur die N-substituierte Base frei von allen, auch mit Alloxan kondensationsfähigen Produkten, entstehen. Diese Reinheit des erhaltenen 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-methylamino-benzols, die wenigen leicht durchführbaren Reaktionsstufen, der bessere Ertrag und das billigere Ausgangsmaterial waren somit die Vorteile der neuen, vom 1,2-Dimethyl-4-oxy-benzol ausgehenden Synthese des Lumi-lactoflavins.

Auf diesem Wege war nun auch die Synthese eines 5,6-Benzo-9-methyl-flavins F. 45 möglich. Das α-Nitro-β-äthoxy-naphtalin, sowie die aus ihm durch Umsetzung mit Methylamin bei 160° ent-

---

[65]) In Anlehnung an Versuche von Ullmann am o-Nitrophenol A. 327,114.

stehende Nitrobase[66]), waren aus der Literatur bekannt. Die Nitrierung wurde mit kleinen Abänderungen nach Wittkampf[67]) durchgeführt. Die Umwandlung des Nitroäthers gelang nach einigen weniger ertragreichen Vorversuchen durch 10-stündiges Erhitzen mit 33%iger alkoholischer Methylaminlösung auf 130°. Es entstanden 85% schmelzpunktsreine Substanz. Die Nitrogruppe wurde wieder wie oft beschrieben in salzsaurer Lösung mit $SnCl_2$ reduziert. Das erhaltene 3,4-Benzo-2-amino-1-methylamino-benzol (F. 44) stimmte in der grünen Eisenchloridreaktion mit dem 1,2-Dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzol überein. Die Kondensation zum Farbstoff wurde sowohl durch Schütteln des Dichlorhydrates, der eben genannten Base, mit Alloxan in Borsäure und Eisessig, als auch mit dem gleichen Reagenz in wässriger Lösung durchgeführt. Zur Reinigung des so gewonnenen 5,6-Benzo-9-methyl-flavins (F. 45) bediente ich mich wieder der Kristallisation aus Ameisensäure. Die Löslichkeit gegenüber dem Lumi-lactoflavin in organischen Solventien war größer, die in Pufferlösungen $p_H = 3—9$ geringer. Beim Erhitzen bis zu 360° war auch hier kein Schmelzpunkt festzustellen[68]).



[66]) R. Meldola u. J. H. Lane Soc. 85,1602.
[67]) L. Wittkampf B. 17,394.
[68]) An einem weniger reinen Präparat konnte ich bei 355—360° einen Zersetzungspunkt beobachten.

Von den Eigenschaften dieses Flavins interessierte am meisten die Farbe, die man im Vergleich zu der orangegelben des 6,7,9-Trimethyl-iso-alloxazins als braunorange bezeichnen kann. Das lichtelektrisch gemessene Spektrum zeigte gegenüber dem des 6,7,9-Trimethyl-flavins deutliche Unterschiede (Abb. 3).

Aus der Gegenüberstellung der den beiden Farbstoffen zugehörigen Banden erkannte man, daß im wesentlichen, wie durch das Hinzufügen neuer Doppelbindungen in dem in 5,6-Stellung angegliederten Benzolring zu erwarten, eine Verschiebung nach dem langwelligen Gebiet eingetreten war.

6,7,9-Trimethyl-flavin	5,6-Benzo-9-methyl-flavin
470 mμ $\varkappa$ 20 · 10^3	485 mμ $\varkappa$ 23 · 10^3
„ 445 „ „ 26 · 10^3	„ 463 „ „ 26,5 · 10^3
„ 420 „ „ 20 · 10^3	„ 440 „ „ 16,5 · 10^3
„ 360 „ „ 17 · 10^3	395 „ „ 10,5 · 10^3
„ 341 „ „ 16 · 10^3	355 „ „ 6 · 10^3
„ 312 „ „ 6,5 · 10^3	305 „ „ 30 · 10^3
„ 270 „ „ 75 · 10^3	260 „ „ 68,5 · 10^3

Der Übergang der für Lacto- und Lumi-Flavin charakteristischen Bande von 445 nach 463 mμ und der langwelligsten von 470 nach 485 mμ machte die am 5,6-Benzo-9-methyl-flavin beobachtete dunklere Farbe verständlich. Das im Ultraviolett liegende Maximum des Lumiflavins von 270 mμ war dagegen um 10 mμ nach dem kurzwelligen Teil des Spektrums verschoben. Die bei 305 mμ liegende Bande des 5,6-Benzo-9-methyl-flavins war bei der größeren Extinktion $\varkappa = 30 \cdot 10^3$ gegenüber den in der Nähe liegenden des 6,7,9-Trimethyl-flavins $\varkappa = 6{,}5 \cdot 10^3$ und $16 \cdot 10^3$ wahrscheinlich nicht durch Verschiebung einer solchen entstanden, sondern stellte ein neu aufgetretenes, für diesen Farbstoff charakteristisches Absorptionsmaximum dar.

Wegen der schon erwähnten geringen Löslichkeit des 5,6-Benzo-9-methyl-iso-alloxazins war ein direkter Vergleich seines Redoxpotentials mit denen der andern Farbstoffe dieser Klasse bei p_H 4,7 nicht möglich.

Die bei $p_H = 12{,}8$ und 20° ausgeführte vergleichende Messung ergab :

Lactoflavin	5,6-Benzo-9-methyl-flavin
— 0,44 Volt	— 0,50 Volt.

Das Redoxpotential des 5,6-Benzo-9-methyl-flavins besaß damit von allen bisher untersuchten Iso-alloxazinen den negativsten Wert.

Nach den bisherigen guten Ergebnissen dieser Methode prüfte ich auch das Verhalten von o-Nitro-allyl-äthern gegenüber Aminen. Bei der Beweglichkeit der O-Allylgrupe und der leichten synthetischen Zugänglichkeit dieser Äther, war der Ausfall dieser Reaktionen besonders interessant. Da die von o-Xylol sich ableitenden symmetrischen Derivate durch große Kristallisationsfähigkeit ausgezeichnet sind, so wählte ich für diese Versuche das 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-allyloxy-benzol[69]), das einen gut kristallisierten fast farblosen Körper vom Schmelzpunkt 52,5—53° darstellt. Die Einwirkung von Methylamin lieferte die reine Nitrobase in 92% Ausbeute, während die Umsetzung mit Kolamin zu 56% erfolgte.

Auch die Einwirkung von Zuckeraminen auf Nitroäther wurde untersucht und zwar die von l-Arabinamin auf 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-methoxy-benzol. Der größte Teil des vermeintlichen Reaktionsproduktes konnte an seiner leichten Löslichkeit in Äther als unverändertes Ausgangsmaterial erkannt werden.

Abgesehen von der Reaktionsträgheit mit den Zuckeraminen stellte die Äthermethode besonders für den Aufbau der 9-Alkylflavine, wie die angeführten Synthesen des Lumi-lactoflavins und des 5,6-Benzo-9-methyl-flavins zeigten, ein ergiebiges Verfahren dar; zumal auch die asymmetrischen Nitroäther die Darstellung der zugehörigen N-substituierten Basen ermöglichen, während bei den entsprechenden Dinitrokörpern die Umsetzung mit Aminen zur Bildung zweier isomerer Substanzen führen kann.

IV. Versuch zur Chlorierung von Alloxazin.

Bei der alkalischen Lichtspaltung der Lyochrome entstand, wie schon mitgeteilt, das Lumiflavin; in schwach saurer oder neutraler Lösung dagegen nach Karrer[70]) unter Abspaltung der ganzen Zuckerkette das 6,7-Dimethyl-alloxazin. Da das freie Iso-alloxazin nicht beständig ist und sich in das Alloxazin umlagert, so haben wir in diesem Azin den einfachsten Grundkörper, der unter Abspaltung von 2 Mol Wasser aus Alloxan und aromatischen Diaminen entstehenden Kondensationsprodukte, vor uns. Bei den Purinen, die, wie die Körper

[69]) Dargestellt in Anlehnung an Versuche am Nitrophenol und Phenol L. Claisen u. O. Eisleb A. 401,59.
L. Claisen A. 418,78.

[70]) P. Karrer, H. Salomon, K. Schöpp, E. Schlittler u. H. Fritsche Helv. chim. Acta XVII 1010 (1934).

dieser Reihe einen heterocyklischen Pyrimidinring besitzen, konnte nun Emil Fischer[71]) über die mit $POCl_3$ dargestellten Chlorverbindungen die von Sauerstoff freien Grundkörper gewinnen. Zur Durchführung ähnlicher Umwandlungen übertrug ich nun diese Versuche auf das Alloxazin und ließ darauf einen Überschuß von Phosphoroxychlorid einwirken. Ich erhielt dabei einen blauen, chlorhaltigen Farbstoff[72]), der von den folgenden Lösungsmitteln mit den angegebenen Farben aufgenommen wurde:

H_2SO_4 (konz.) und HCl (konz.)		königsblau
	Äthanol Methanol	kaum sichtbare Spuren
	Aceton Essigester	violett
	Eisessig	karminrot (grüne Fluorescenz bes. im ultravioletten Licht)
	Dioxan	rotviolett
konz.	Ameisensäure	violett
	Pyridin	blau bis rot, je Aufsicht oder Durchsicht. (stark grüne Fluorescenz bes. im ultravioletten Licht)

In Benzol, Benzin und Chloroform zeigte sich die Substanz vollkommen unlöslich.

Versetzte man die Pyridinlösung des Farbstoffs mit Hydrosulfit und fügte dann soviel Wasser zu, bis sich die beiden Lösungsmittel nicht mehr mischten, so trat beim schwachen Erwärmen Entfärbung zur gelben Leukoverbindung ein, die beim Schütteln mit Luft den blauroten Farbstoff zurückbildete. Die gefundenen Analysenzahlen ergaben, daß auf ca. 1 Mol Alloxazin 1 Atom Chlor eingetreten war. Die unerwartet starke Farbvertiefung zeigte, daß es sich bei dieser Reaktion nicht um eine bloße Substitution durch Halogen handeln konnte. Die Versuche Emil Fischers in der Purinreihe führten also auf das Alloxazin übertragen zu einer neuartigen Verbindung von Farbstoffcharakter. Neben dem Eintritt von Chlor mußten hier weitere Umsetzungen stattgefunden haben, die mit dem bis jetzt erhaltenen experimentellen Material nicht zu übersehen waren.

---

[71]) Emil Fischer: B 17, 328, B 32, 454.

[72]) Auch das homologe, hellgelbe 6,7-Dimethyl-alloxazin verwandelte sich beim Erhitzen mit $POCl_3$ im Einschlußrohr in eine dunkelblaue Substanz.

Experimenteller Teil.

B. Flavinsynthesen.

I. Toluolsulfomethode

6,8,9-Trimethyl-flavin

2-Amino-4,6-dimethyl-1-toluolsulfamido-benzol

1. 2 Nitro-4,6-dimethyl-toluolsulfamido-benzol

3,4 g 2-Nitro-4,6-dimethyl-1-amino-benzol und 3,8 g Toluolsulfochlorid wurden in 10 ccm Pyridin 2 Stunden mit kleiner Flamme am Rückfluß erhitzt. Durch Eingießen in Wasser schied sich das Reaktionsprodukt zunächst ölig ab; konnte aber durch Reiben leicht zum Kristallisieren gebracht werden. Die abgesaugte, zerriebene und gewaschene rohe Toluolsulfoverbindung wog 6 g (91% d. Th.) und zeigte nach einmaligem Umkristallisieren aus absolutem Alkohol den Schmelzpunkt von 131—132° (5,4 g = 82% d. Th.)

Zur Analyse wurde noch dreimal aus Eisessig umkristallisiert. Smp. 136,5—137°.

4,205 mg Sbst.: 8,72 mg CO_2 1,99 mg H_2O

4,767 mg Sbst.: 0,372 ccm N (23° 751 mm)

$C_{15}H_{16}N_2SO_4$ (320,1) Ber. C 56,23 H 4,998 N 8,75

Gef. C 56,56 H 5,33 N 8,89

2. 2-Nitro-4,6-dimethyl-1-(N-methyl-toluolsulfamido-benzol)

4 g 2-Nitro-4,6-dimethyl-1-toluolsulfamido-benzol wurden in 45 ccm KOH suspendiert. Dann wurden 10 ccm Dimethylsulfat in kleinen Anteilen unter Schütteln abwechselnd mit 20%iger KOH hinzugefügt und zwar so, daß die Lösung immer schwach alkalisch blieb. Zur Vervollständigung der Reaktion wurde öfter auf dem Drahtnetz erhitzt. Das abgesaugte Reaktionsprodukt wurde im Mörser zerrieben und mit Wasser öfter gewaschen. Es waren entstanden 3,9 g, die nach Umkristallisieren aus Alkohol 3,5 g Substanz (83% d. Th.) Smp. 166—167° lieferten.

Für die Analyse wurde noch zweimal aus Alkohol umgelöst. Smp.: 167—167,5°.

4,341 mg Sbst.: 9,20 mg CO_2 2,16 mg H_2O

4,403 mg Sbst.: 0,333 ccm N (24° 752 mm)

$C_{16}H_{18}N_2SO_4$ (334,1) Ber.: C 57,48 H 5,43 N 8,38

Gef.: C 57,80 H 5,57 N 8,60

3. 2-Nitro-4,6-dimethyl-1-methylamino-benzol[1])

3,2 g 2-Nitro-4,6-dimethyl-1-(N-methyl-toluolsulfamido)-benzol wurden mit einem Gemisch von 7 ccm H_2SO_4 konz. und 3 ccm Eisessig 1 Stunde auf dem Dampfbad erhitzt. Bei Eingießen in Wasser schied sich nur wenig unreine Substanz ab. Durch Sättigen der filtrierten Lösung mit Natriumacetat fiel die Nitrobase in kleinen roten Blättchen aus, die durch mehrmaliges Ausschütteln in Äther aufgenommen wurde. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels blieben 1,6 g rote Base (Smp.: 54—56°) zurück, die durch Trocknen über NaOH von anwesender, mit ausgeätherter Essigsäure befreit worden war. In der Literatur[1]) wird für ein vom m-Xylidin aus über Nitroxylyl-methylnitrosamin gewonnenes und gereinigtes Präparat die gleiche Farbe und Kristallform (karminrote Platten mit grünem Oberflächenschimmer) und der Smp. nur wenig höher mit 58° angegeben.

4. 2-Amino-4,6-dimethyl-1-methylamino-benzol

1,6 g 2-Nitro-4,6-dimethyl-1-methylamino-benzol wurde in eine Lösung von 10 g $SnCl_2\,2\,H_2O$ in 25 ccm Salzsäure eingetragen. Die Reduktion setzte bald ein, wie an der Erwärmung und dem farblosen Lösen der hinzugefügten roten Base zu erkennen war. Das Reaktionsgemisch wurde noch vor völligem Erkalten in eine abgekühlte Lösung von 30 g NaOH in 60 ccm Wasser gegossen; das abgeschiedene Diamin ließ sich durch mehrmaliges Durchschütteln mit Äther leicht abtrennen. Aus der mit Natriumsulfat getrockneten und eingeengten ätherischen Lösung wurde durch Einleiten von trockenem HCl das Chlorhydrat des entstandenen 2-Amino-4,6-dimethyl-1-methylamino-benzols gefällt, aus dem Weygand durch Kochen mit einer sauren Lösung von Alloxan das 6,8,9-Trimethyl-flavin erhielt.

6,7,9-Trimethyl-flavin (Lumi-lactoflavin)

1. 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-toluolsulfamido-benzol

16,6 g ($^1/_{10}$ Mol) 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-amino-benzol und 19,1 g ($^1/_{10}$ Mol) p-Toluol-sulfochlorid in 40 ccm Pyridin (über Bariumoxyd getrocknet) gelöst, wurden 4—5 Stunden unter Rückfluß (Chlorcalciumrohr) auf dem Dampfbade erhitzt. Die noch warme braune Lösung wurde unter Rühren in 700 ccm kaltes Wasser eingegossen, wobei die Toluolsulfonyl-Verbindung als rasch er-

[1]) Joh. Pinnow u. R. Österreich B. 31,2931, 2932.

starrendes Öl ausfiel. Man verrieb gründlich und wusch auf der Nutsche wiederholt mit Wasser. Das gelbe Rohprodukt wurde in 100 ccm siedendem Eisessig gelöst. Beim Erkalten kristallisierten 28,5—29 g (89—91% d. Th.) 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-toluolsulfamido-benzol, das mit etwas kaltem Eisessig gewaschen und auf dem Dampfbade getrocknet wurde. Durch starkes Einengen der Mutterlauge erhielt man nur noch eine geringe zweite Kristallisation. Aus der grünstichig-gelben Lösung in Eisessig kristallisierte die Toluolsulfonyl-Verbindung in schönen, citronengelben, an den Enden abgeschrägten Prismen (Auslöschungsschiefe etwa 10°), die bei 150,5°—151° schmolzen.

4,148 mg Subst.: 8,56 mg CO_2 1,90 mg H_2O
4,138 mg Subst.: 0,320 ccm N (21° 740 mm)
$C_{15}H_{16}N_2SO_4$ (320,1) Ber.: C 56,23 H 5,00 N 8,75
Gef.: C 56,28 H 5,12 N 8,74

Die Substanz ist in verdünntem Alkali mit gelber Farbe löslich, doch ist die Löslichkeit bei 15—20° nur gering.

2. 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-(N-methyl-toluol-sulfamido)-benzol.

Je 5 g Toluolsulfonyl-Verbindung wurden mit 50 ccm n/1 Kalilauge[1]) übergossen und auf 50—60° erwärmt, wobei sich am Boden des Gefäßes ein rötliches Öl bildete. Nun gab man nicht zu langsam, in kleinen Anteilen unter lebhaftem Schütteln insgesamt 17,5 ccm Dimethylsulfat zu. Jedesmal, wenn der Farbumschlag nach milchig-hellgelb anzeigte, daß die Lösung sauer wurde, gab man etwas 20proz. Kalilauge zu. Gegen Ende der Reaktion wurde der Farbumschlag immer weniger deutlich, weshalb man zuletzt öfters mit Lackmus-Papier prüfte. Reichte die Reaktionswärme nicht mehr aus, um die anfängliche Temperatur (50—60°) aufrecht zu erhalten, so erwärmte man von Zeit zu Zeit wieder. In etwa 15 Min. war die Methylierung beendet. Die methylierte Toluolsulfonyl-Verbindung schied sich schon während der Reaktion in fast farblosen Flocken aus, die durch überschüssiges Dimethylsulfat oft vorübergehend zu einem Öl wurden. Nach beendeter Methylierung wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und noch feucht aus 150—180 ccm, siedendem Methanol, dem in der Hitze vorsichtig einige ccm Wasser zugesetzt waren, umkristallisiert. Man erhielt so 4,5—4,9 g (87—94% d. Th.) methylierte Toluolsulfonyl-Verbindung, durch Einengen der Mutterlauge bis zu 0,5 g. weitere, etwas weniger reine Substanz. Zur Analyse

[1]) Dargestellt nach E. Nölting u. G. Thesmar B. 35,628 (1902).

wurde aus Methanol und zweimal aus Äthylalkohol umkristallisiert, wobei fast farblose (ganz blaß strohgelbe) Nadeln erhalten wurden, die zu schönen Rosetten vereinigt waren. Der Schmp. lag nach wiederholten Kristallisationen aus Methanol und aus Eisessig bei 148,5—149° (k. Th.)

4,264 mg Sbst.: 8,98 mg CO_2, 2,05 mg H_2O.
3,933 mg Sbst.: 0,289 ccm N (21° 740 mm).
$C_{16}H_{18}N_2SO_4$ (334,1) Ber.: C 57,48 H 5,43 N 8,38
Gef.: C 57,42 H 5,38 N 8,31

In verdünntem Alkali ist die methylierte Toluolsulfonyl-Verbindung unlöslich.

3. 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-methylamino-benzol

22,3 g ($^2/_{30}$ Mole) methylierte Toluolsulfonyl-Verbindung wurden mit einem Gemisch von 10,5 ccm Eisessig u. 25 ccm konz. Schwefelsäure 1 Stunden auf dem Dampfbade erhitzt[3]). Die erkaltete rotbraune Lösung wurde in 700 ccm kaltes Wasser gegossen, wobei das methylierte Nitro-xylidin in orangefarbigen Flocken ausfiel. Das mit Wasser gewaschene und getrocknete Rohprodukt (11,3 g, 94% d. Th.) wurde aus 150 ccm absol Äthylalkohol umkristallisiert. Man erhielt dabei glänzende, orangerote, rechteckige Täfelchen oder schmale Prismen, deren Schmelzpunkt bei 139° (k. Th.) lag.

4,220 mg Sbst.: 9,34 mg CO_2, 2,52 mg H_2O.
4,164 mg Sbst.: 9,215 mg CO_2, 2,48 mg H_2O.
3,087 mg Sbst.: 0,417 ccm N (20° 740 mm).
3,387 mg Sbst.: 0,457 ccm N (20° 741 mm)
$C_9H_{12}N_2O_2$ (180,1)
Ber.: C 59,97 H 6,72 N 15,56
Gef.: C 60,36 60,34 H 6,68 6,66 N 15,33 15,33

4. 1,2-Dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzol

12,25 g 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-methylamino-benzol wurden unter Umschütteln in eine Lösung von 75 g Zinnchlorür ($SnCl_2 2H_2O$) in 150 ccm konz. Salzsäure eingetragen, wobei die Substanz unter Aufsieden in Lösung ging. Zur Vervollständigung der Reduktion erhitzte man noch einige Minuten auf dem Drahtnetz und goß

[3]) Methyliert man in der üblichen Weise mit Natronlauge in der Kälte, so kann die Methylierung leicht unvollständig bleiben.

noch warm in eisgekühlte, carbonatfreie, überschüssige Natronlauge (200 g NaOH in 350 ccm Wasser). Das dabei ausfallende Diamin wurde sofort durch mehrmaliges Ausschütteln in Äther aufgenommen[4]), der Äther über Natriumsulfat getrocknet, auf etwa 100 ccm eingeengt, und trockner Chlorwasserstoff eingeleitet. Von dem fast farblosen Dichlorhydrat (14,55 g 96% d. Th.) wurden 0,5 g zur Analyse aus 5 ccm HCl-haltigem Alkohol umkristallisiert. Die reine Substanz stellt farblose, breite Nadeln dar, die sich bei schnellem Erhitzen zwischen 180—185° zersetzen.

4,291 mg Sbst.: 7,57 mg CO_2, 2,66 mg H_2O.
3,385 mg Sbst.: 0,371 ccm N (20° 750 mm).
3,704 mg Sbst.: 0,408 ccm N (20° 749 mm).
$C_9H_{14}N_2$, 2HCl (223,0)

Ber.: C 48,42 H 7,23 N 12,56
Gef.: C 48,17 H 6,94 N 12,60 12,65

Die freie Base $C_9H_{14}N_2$ sublimiert unter 1—2 mm bei etwa 90° (Luftbad) in schneeweißen, breiten, dachförmig abgeschrägten Prismen, die mitunter fächerförmig verwachsen sind. Schmp. 79 bis 80°.

Die Lösung des 1,2-Dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzols wird durch einen Tropfen sehr verd. Eisenchlorid-Lösung tiefblau. Gibt man etwas 2-n Salzsäure zu, so schlägt die Farbe nach smaragdgrün (beständig) um. Die konz. wässrige Lösung des Dichlorhydrats gibt mit Ferrichlorid (Unterschuß) eine tief smaragdgrüne Färbung, die jedoch in wenigen Sekunden nach olive umschlägt.

5. 6,7,9-Trimethyl-flavin (Lumi-lactoflavin). Eine Lösung von 6,0 g Dichlorhydrat des 1,2-Dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzols wurde mit einer Lösung von 6,4 g Alloxan-Tetrahydrat (10% Überschuß) in 25 ccm Wasser versetzt und 15 Min. auf 50—60° erhitzt. Der Farbstoff begann schon nach wenigen Minuten auszufallen, nach dem Erkalten wurde abgesaugt und im Vakuum getrocknet. Das Rohprodukt wog 6,2 g (90% d. Th.). Zum Umkristallisieren wurde in 12 Tln. heißer 100-proz. Ameisensäure gelöst, der man zur Beschleunigung der Kristallisation noch etwas Aceton oder Methanol zusetzen kann. Das 6,7,9-Trimethyl-flavin kristallisierte aus Ameisensäure in seideglänzenden, gelben, sehr feinen, langen Nadeln, die das Lösungsmittel ge-

[4]) Die Emulsionsbildung läßt sich durch Verdünnen mit Wasser unschwer verhindern.

bunden enthalten. Trocknete man 3 Stdn. unter 14 mm bei 100°, so enthielten die Kristalle noch $^1/_2$ Mol Ameisensäure:
4.235 mg Sbst.: 8,99 mg CO_2, 1,67 mg H_2O.
4,097 mg Sbst.: 8,69 mg CO_2, 1,70 mg H_2O.
2,355 mg Sbst.: 0,418 ccm N (20°, 750 mm).
2,465 mg Sbst.: 0,437 ccm N (20°, 750 mm).
$2\,C_{13}H_{12}N_4O_2$, $H \cdot COOH$

Ber.:	C 58,04		H 4,69		N 20,06
Gef.:	C 57,90	57,85	H 4,41	4,64	N 20,41 20,38

Trocknete man 3 Stdn. unter 1—2 mm bei 135°, so entwich alle Ameisensäure, und das 6,7,9-Trimethyl-flavin nahm orangegelbe Farbe an (so wie die aus Eisessig kristallisierenden Produkte).
4.326 mg Sbst.: 9,68 mg CO_2, 1,93 mg H_2O.
4.614 mg Sbst.: 10.25 mg CO_2, 1,95 mg H_2O.
2.239 mg Sbst.: 0,433 ccm N (23°, 753 mm).
2.170 mg Sbst.: 0,420 ccm N (23°, 753 mm).
$C_{13}H_{12}N_4O_2$ (256,1)

Ber.:	C 60,91		H 4,72		N 21,86
Gef.:	C 61,03	60,71	H 4,99	4,73	N 22,10 22,12

6. Alloxanyl-1,2-dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzol.

4,9 g 1.2.Dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzol wurden mit 7 g Alloxan-Tetrahydrat[5]), jedes für sich in absol. Alkohol, insgesamt 70 ccm, gelöst, bei 15—20° vermischt[6]). Nach wenigen Minuten begann die Abscheidung des gelben Kondensationsproduktes, die man durch Aufbewahren im Eisschrank vervollständigte. Man erhielt 8,3 g (93% d. Th.) getrocknetes Rohprodukt, das sich fast ohne Verlust aus 20 Tln. siedendem Eisessig umkristallisieren ließ. Die grünstichig-gelbe Substanz stellt schmale, gerade auslöschende Stäbchen dar, die unter Zersetzung bei 251—252° (k. Th.) schmelzen.
4.336 mg Sbst.: 9,00 mg CO_2, 1,93 mg H_2O.
2.395 mg Sbst.: 0,424 ccm N (21°, 753 mm).
2,191 mg Sbst.: 0.395 ccm N (23°, 753 mm).
$C_{13}H_{14}N_4O_3$ (274,1) Ber.: C 56,91 H 5,14 N 20,43
Gef.: C 56,61 H 4,98 N 20,37 20,60

7. 1-Methyl-2-oxo-6,7-dimethyl-1,2-dihydro-chinoxalin-3-carbonsäure.

5,0 g Alloxanyl-1,2-dimethyl-4-amino-5-methylamino-benzol wur-

[5]) Über Nacht im Vakuum über Pentoxyd getrocknet.
[6]) Vergl. O. Kühling B. 39,1324 (1906).

den mit 150 ccm 2-n. Sodalösung 3 Stunden unter Rückfluß gekocht. Man filtrierte und machte mit konz. Salzsäure kongo-sauer. Die ausfallende hellgelbe Oxo-säure wurde abgesaugt, auf der Nutsche mit Wasser gewaschen und noch feucht aus 45 ccm siedendem Eisessig umkristallisiert. Man erhielt 3,2 g (80% d. Th.) strohgelbe, abgeschrägte Stäbchen von gerader Auslöschung, die oft büschelig angeordnet waren. Rasch erhitzt schmolz die Substanz bei 214° (k. Th.) unter lebhafter Zersetzung (CO_2 Abspaltung).

4,193 mg Sbst.: 9,52 mg CO_2, 2,02 mg H_2O.
4,308 mg Sbst.: 9,74 mg CO_2, 2,07 mg H_2O.
4,090 mg Sbst.: 0,426 ccm N (21°, 755 mm).
3,935 mg Sbst.: 0,421 ccm N (21°, 752 mm).

$C_{12}H_{12}N_2O_3$ (232,1)

Ber.:	C 62,04		H 5,21		N 12,06	
Gef.:	C 61,92	61,66	H 5,39	5,38	N 12,01	12,03

Das durch Erhitzen hieraus entstehende 1-Methyl-2-oxo-6,7-dimethyl-1,2-dihydro-chinoxalin zeigte nach dem Sublimieren bei 1—2 mm den Schmp. 176°.

6,9-Dimethyl-flavin

1.) 1-Methyl-4-nitro-5-toluolsulfamido-benzol

15,2 g 1 Methyl-4-nitro-5-amino-benzol wurden mit 20,5 g Toluolsulfochlorid und 40 ccm trockenem Pyridin 4 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt; und in 700 ccm Wasser eingegossen. Das sich zunächst als Öl abscheidende Produkt erstarrt bald und wird nach gründlichem Verreiben im Mörser öfter mit Wasser dekantiert. Zur weiteren Reinigung wurde aus 80 ccm Eisessig umkristallisiert.

Es wurden erhalten 26,4 g. Smp.: 100°
Ausbeute: 86,3% der Theorie. (30,6 g).
Durch Einengen der Mutterlauge ließ sich noch 1 g weniger reines Produkt gewinnen.
Der gefundene Schmelzpunkt stimmt mit den Angaben in der Literatur[7]) überein. (101°)

2.) 1-Methyl-4-nitro-5-(N-methyl-toluol-sulfamido)-benzol.

1 g Toluolsulfoverbindung wurden in 10 ccm n. KOH suspendiert und in Portionen abwechselnd im Ganzen mit 4 ccm Dimethyl-

[7]) F. Ullmann u. Ch. Groß B. 43,2698.

sulfat und 12 ccm Kalilauge (25%) unter Schütteln versetzt wie bei der Methylierung für die Synthese des Lumi-laktoflavins. Durch Verreiben, Dekantieren mit Wasser und anschließendem Umkristallisieren aus 25—30 ccm Alkohol wurde das ausgefallene Reaktionsprodukt gereinigt.
Es entstanden 800 mg. Smp.: 122—124°.
In derselben Weise wurden nun 22 g methyliert und das noch etwas feuchte Rohprodukt (23 g) aus 250 ccm Äthanol umkristallisiert.
Es wurden erhalten 18,6 g. Smp.: 122—124°
Ausbeute: 83% der Theorie. (22,5 g.)
Aus der eingeengten Mutterlauge schieden sich noch 0,5 g. Reaktionsprodukt ab. Die reine Substanz schmolz in Übereinstimmung mit der Literatur[8]) bei 124°.

3.) 1-Methyl-4-nitro-5-methylamino-benzol

15,6 g methylierte Toluolsulfoverbindung wurden mit 18 ccm Schwefelsäure (conc.), die mit 8 ccm Eisessig vermischt waren, 1 bis 2 Stunden auf dem Dampfbad erhitzt. Beim Eingießen in 700 ccm Wasser scheidet sich die orangerote Nitrobase in Flocken ab, die durch Zentrifugieren von der wässrigen Säure getrennt wurde. Nach mehrmaligem Auswaschen kristallisiert man aus 65 ccm Alkohol um.
1. Fraktion: 6,6 g. Smp.: 85—86°.
Ausbeute: 81,6% d. Th.
Aus der eingeengten Mutterlauge kristallisierten noch 650 mg aus. Smp. 82—83°. Gesamtausbeute: 89,6%.
Der in der Literatur[9]) angegebene Schmelzpunkt lag um 1 niedriger, als der bei der 1. Fraktion gefundene.

4.) 1-Methyl-4-amino-5-methylamino-benzol-dichlorhydrat

5,1 g N-Methylnitrobase wurden in eine Lösung von 30 g Stannochlorid in 60 ccm Salzsäure (conc.) eingetragen. Zur Vervollständigung der Reaktion wurde kurze Zeit auf dem Drahtnetz erwärmt und alsdann in eine abgekühlte Lösung von 110 g Natriumhydroxyd in 200 g Wasser eingegossen.
Das abgeschiedene Diamin wurde mit Äther aufgenommen, und die ätherische Lösung öfter mit Wasser gewaschen. Ein Fünftel der so erhaltenen Lösung (500 ccm) wurde zurückbehalten, auf

---

[8]) F. Ullmann u. Ch. Groß B. 43,2699.
[9]) F. Ullmann u. Ch. Groß B. 43,2699.

15 ccm eingeengt, und das Chlorhydrat der Base zur Identifizierung und zur Bestimmung der Ausbeute durch Einleiten von trockenem Chlorwasserstoff gefällt. Das über Calciumchlorid getrocknete Produkt wog 1,25 g. In der ganzen ätherischen Lösung waren daher auf Chlorhydrat berechnet 6,25 g enthalten, was einer Ausbeute von 97,7% der Theorie (6,4 g) entspricht. Das Salz läßt sich aus HCl-haltigem Äthanol umkristallisieren.
Smp.: 180—185° u. Z. wie in der Literatur[10]) angegeben.

5.) 6,9-Dimethyl-flavin

400 ccm der im vorigen Versuch erhaltenen ätherischen Lösung der Base wurden in Portionen mit 330 ccm Salzsäure 2n. ausgeschüttelt. $^4/_5$ der Lösung, entsprechend 4 Gramm Chlorhydrat, wurden mit einer Lösung von 4,5 g Alloxantetrahydrat in 50 ccm Wasser versetzt. Aus der zum Sieden erhitzten Lösung kristallisierte das Flavin nadelförmig aus. Das abgesaugte Reaktionsprodukt wurde mit Wasser gewaschen und über Natriumhydroxyd getrocknet.

Erhalten 4,4 g. (95% d. Th.) (4,63)
Zur Reinigung und zur Analyse wurde, wie bei dem Lumi-laktoflavin, aus wenig heißer conc. Ameisensäure umkristallisiert. Das reine Präparat zeigte bis 360° erhitzt keinen Schmelzpunkt.
4,294 mg Subst.: 9,36 mg CO_2, 1,52 mg H_2O.
4,324 mg Subst.: 9,4 mg CO_2, 1,57 mg H_2O.
2,220 mg Subst.: 0,449 ccm N (18°, 744 mm).
2,000 mg Subst.: 0,408 ccm N (21°, 745 mm).
$C_{12}H_{10}N_4O_2$ (242,08)

Ber.:	C 59,48		H 4,16		N 23,13
Gef.:	C 59,45	59,27	H 3,96	4,06	N 23,23 23,22

Oxydation von Lumi-laktoflavin mit Kaliumpermanganat.

1. 200 mg Lumi-laktoflavin wurden in 350 ccm siedender 2 n Schwefelsäure allmählich mit einer Lösung von 300 mg Kaliumpermanganat in 50 ccm Wasser versetzt. Die Farbe des zugefügten Oxydationsmittels verschwand sehr schnell, während die des Flavins unverändert blieb. Nach Abbauversuchen von Kuhn u. Rudy am Naturprodukt wurde nun die Reaktionslösung im Extraktionsapparat mit Chloform ausgezogen. Durch Eindampfen

[10]) Eug. Bamberger u. P. Wulz B. 24,2082.

der mit Wasser gewaschenen und mit Natriumsulfat getrockneten Flavinlösung wurden 60 mg Substanz erhalten, die in ihren Eigenschaften gegenüber dem Ausgangsmaterial keine Unterschiede zeigte.

2. In einer Lösung von 400 mg Magnesiumsulfat in 400 ccm Wasser wurden 200 mg Lumiflavin suspendiert und bei 75—80° unter ständigem Turbinieren 500 mg Kaliumpermanganat in 50 ccm Wasser hinzugefügt. Nach Beendigung der Reaktion, bei der fast aller Farbstoff in Lösung ging, wurde zur Entfernung überschüssigen Lumiflavins öfter mit Chloroform ausgeschüttelt. Es ließ sich ein Endpunkt erreichen bei dem von dem organischen Lösungsmittel kein Pigment mehr aufgenommen wurde, die wässrige Flüssigkeit dagegen noch deutlich gefärbt war. Zur Entfernung der anwesenden SO_4 Ionen, die bei der Reinigung des Flavins über das Silbersalz stören würden, ließ man in die zum Sieden erhitzte Lösung 700 mg Bariumacetat, in 30 ccm Wasser gelöst, eintropfen. Nach dem Abfiltrieren des ausgefallenen Bariumsulfats wurde auf 50—60 ccm eingeengt und die schwach-ammoniakalisch gemachte Lösung mit Silbernitrat gefällt. Der mit gesättigter Silberacetatlösung gewaschene Niederschlag wurde in heißer verdünnter Essigsäure mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Nach dem Beseitigen colloidalen Schwefels durch Aufkochen mit Filtrierpapier wurde eingeengt. Nach mehrtägigem Stehen schieden sich 20 mg Farbstoff ab, der noch zweimal im Zentrifugenglas aus wenig verdünnter Essigsäure umkristallisiert wurde.

Flavinsynthesen nach der DINITROMETHODE

6, 7, 9-Trimethyl-flavin

1,2-Dimethyl-4-nitro-5-methylamino-benzol

1,3 g 1,2-Dimethyl-4-5-dinitro-benzol und 4 g alkoholische Methylaminlösung (33%) wurden 7—8 Stunden auf 135° erhitzt. Die in schönen roten Kristallen abgeschiedene Base wurde abgesaugt und mit Alkohol gewaschen.

erhalten 1,05 g. Smp.: 139°.
Ausbeute 88% d. Th. (1,19)

6,7-Dimethyl-9-d-xylo-flavin

1.) 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-d-xylamino-benzol

1 g 1,2-Dimethyl-4-5-dinitro-benzol wurde in einem Bombenrohr mit 2 g d-Xylamin in 25 ccm Äthanol (80%) 8 Stunden auf 135° erhitzt. Das nach dem Erkalten beim Schütteln auskristallisierte Reaktionsprodukt wurde abgesaugt und mit wässrigem Alkohol (80%) gewaschen. Über Nacht wurde mit Calciumchlorid getrocknet und 4 mal mit 20—30 ccm Äther digeriert.
Als erste Fraktion wurden 820 mg vom Schmelzpunkt 150,5 bis 151,5° erhalten.
Durch Einengen der Mutterlauge erhielt man noch eine zweite (320 mg Smp. 150—151°) und eine dritte Fraktion (120 mg Smp. 150—151°). Erh.: 1,26 g = 82,4% d. Th.
Zur Analyse wurden 150 mg aus 10 ccm Wasser umkristallisiert. Smp. 153,8—154°.

4,432 mg Subst.: 8,49 mg CO_2, 2,7 mg H_2O.
4,270 mg Subst.: 8,16 mg CO_2, 2,595 mg H_2O.
4,168 mg Subst.: 0,345 ccm N (22°, 747 mm).
4,503 mg Subst.: 0,359 ccm N (19°, 754 mm).

$C_{13}H_{20}N_2O_6$ (300,16)

Ber.:	C	51,97		H	6,71	N	9,33
Gef.:	C	52,24	52,12	H	6,82	6,80	N 9,41 9,25

6,7-Dimethyl-9-d-xylo-flavin

450 mg 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-d-xylamino-benzol wurden in 40 ccm Eisessig gelöst und unter Zusatz von 200 mg Platinoxyd bei 1 Atmosphäre Überdruck reduciert. Sobald das Farbloswerden der Flüssigkeit die Beendigung der Hydrierung anzeigte, wurde das in Eisessig gelöste Diamin in eine in der Hitze bereitete Lösung von 250 mg Alloxanmonohydrat und 500 mg Borsäure eingegossen, die wieder auf 30° abgekühlt war. Das bei der Reduktion abgeschiedene Platin wurde durch Filtrieren mit Hilfe eines Watteröhrchens zurückgehalten. Nach einigen Stunden wurde im Vakuum zur Trockne gedampft und der Rückstand im Soxleth-Apparat mit absolutem Alkohol extrahiert. Die abgeschiedenen braunen Stoffe wurden durch Zentrifugieren entfernt, und die flavinhaltige Flüssigkeit wieder eingedampft. Das mit 15—20 ccm n. Essigsäure aufgenommene Rohprodukt lieferte beim Stehen über Nacht im Eisschrank 300 mg Farbstoff. Smp.: 273—275°. Ausbeute 53,2% d. Th. Durch Umkristallisieren aus 35 ccm heißer n. Essigsäure wurden 270 mg Flavin vom Smp. 277—278° erhalten. Zur weiteren Reinigung wurde ein Teil des Präparates im

Soxleth mit absolutem Äthanol extrahiert. Smp.: 287—288°. Für die Analyse wurde 3 Std. über Phosphorpentoxyd bei 1 mm getrocknet.

4,278 mg Sbst.: 8,515 mg CO_2, 2,05 mg H_2O.
4,280 mg Sbst.: 8,48 mg CO_2, 2,05 mg H_2O.
2,810 mg Sbst.: 0,358 ccm N (20°, 752 mm).
2,815 mg Sbst.: 0,368 ccm N (22°, 752 mm).

$C_{17}H_{20}N_4O_6$ (376,2)

Ber.: C 54,23 H 5,36 N 14,88
Gef.: C 54,28 54,04 H 5,36 5,36 N 14,69 14,95

n/10 NaOH.

1. $[\alpha]_D^{20} = (-\ 0{,}335° \times 100) : (0{,}317 \times l) = -\ 105° \pm 3°$

n/10 NaOH.

2. $[\alpha]_D^{20} = (+\ 0{,}44° \times 100) : (0{,}185 \times l) = +\ 280° \pm 10°$

1 Vol. n/10 NaOH + 1 Vol. ges. Boraxlsg.

3. $[\alpha]_D^{21} = (-\ 0{,}10° \times 100) : (0{,}106 \times l) = -\ 95° \pm 10°$

n/10 NaOH.

4. $[\alpha]_D^{21} = (+\ 0{,}11° \times 100) : (0{,}079 \times l) = +\ 140° \pm 15°$

1 Vol. NaOH + 1 Vol. ges. Boraxlsg.

3. nach 36 Stunden:
$[\alpha]_D^{19} = (-\ 0{,}11° \times 100) : (0{,}106 \times l) = -\ 104° \pm 10°$

4. nach 36 Stunden:
$[\alpha]_D^{19} = (+\ 0{,}44° \times 100) : (0{,}079 \times l) = +\ 280° \pm 7°$

9-d-Xylo-flavin

1-Nitro-2-d-xylamino-benzol

1 g o-Dinitrobenzol wurde mit 2 g d-Xylamin in 20 ccm Alkohol (80%) 8 Stunden auf 135° erhitzt. Die dunkelrote Lösung wurde im Vakuum verdampft und der Rückstand 2—3 mal mit Äther ausgezogen. Da das so behandelte Produkt nicht zum Kristallisieren zu bringen war, wurde die ganze Menge in Wasser gelöst und häufig mit Chloroform ausgeschüttelt. Nach Einengen im Vakuum setzte die Kristallisation ein, die nach 2-stündigem Stehen 590 mg Substanz vom Schmelzpunkt 112—112,5° lieferte. Durch Eindampfen und Abkühlen der Mutterlauge ließ sich noch eine zweite (190 mg Smp. 112—112,5°) und eine dritte Fraktion (140 mg 111—112°) gewinnen.

Gesamtausbeute: 920 mg = 56,8% d. Th. (1,62 g).

Zur Analyse wurden 170 mg aus 3 ccm Wasser umkristallisiert. Smp. 112—112,5°.

4,390 mg Sbst.: 7,83 mg CO_2, 2,37 mg H_2O.
4,326 mg Sbst.: 7,71 mg CO_2, 2,36 mg H_2O.
3,635 mg Sbst.: 0,318 ccm N (18°, 755 mm).
3,688 mg Sbst.: 0,320 ccm N (18°, 754 mm).
$C_{11}H_{16}N_2O_6$ (272,1)

Ber.:	C 48,50		H 5,92		N 10,3	
Gef.:	C 48,65	48.61	H 6,04	6,11	N 10,19	10,1

9-d-Xylo-flavin.

450 mg 1 Nitro-2-d-xylamino-benzol wurden in 35 ccm Äthanol mit 200 mg Platinoxyd katalytisch reduciert. Den beim Eindampfen der Diaminlösung im Vakuum bleibenden Rückstand nahm man in 30 ccm Eisessig auf und ließ in eine durch Erhitzen bereitete und wieder auf Zimmertemperatur abgekühlte Lösung von 275 mg Alloxan und 550 mg Borsäure in 40 ccm Eisessig einfließen. Nach Stehen über Nacht wurde im Vakuum verdampft und die Substanz über Natriumhydroxyd getrocknet. Nach Extrahieren mit absolutem Alkohol und Abdestillieren des Lösungsmittels, in dem der ganze jetzt noch unreine Farbstoff enthalten war, wurde aus normaler Essigsäure umkristallisiert.

Es wurden erhalten 180 mg Flavin Smp.: 286—288°.
Ausbeute 36,3% d. Th. (496 mg).
Zur Reinigung wurde noch einmal aus Essigsäure umkristallisiert und endlich mit Alkohol im Soxleth extrahiert.
Schmelzpunkt des reinen Präparates 293—294°.
4,586 mg Sbst.: 8,69 mg CO_2, 1,92 mg H_2O.
3,004 mg Sbst.: 0,423 ccm N (21°, 750 mm).
3,016 mg Sbst.: 0,424 ccm N (23°, 752 mm).
$C_{15}H_{16}N_4O_6$ (348,1)

Ber.:	C 51,71		H 4,62		N 16,09	
Gef.:	C 51,68		H 4,69		N 16,14	16,04

Zur Bestimmung der Drehung wurden 11,05 mg in 6 ccm Natronlauge n/10 gelöst.

$$[\alpha]_D^{21,5} = -\frac{0,09}{0,183}\cdot\frac{100}{2}\cdot\frac{9}{0,366} = -25^\circ \pm 3^\circ$$

Nach dem Verdünnen mit dem gleichen Volumen gesättigter Boraxlösung war keine Drehung mehr festzustellen.

Flavinsynthesen nach der NITROÄTHERMETHODE.

1,2-Dimethyl-4-nitro-5-methylamino-benzol (für Lumi-laktoflavin).

1,2-Dimethyl-4-nitro-5-methoxy-benzol.

Durch Zusammengießen der absolut alkoholischen Lösung von 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-oxy-benzol[11]) und alkoholischer Natronlauge (etwas weniger als berechnet) erhält man dessen Natriumsalz, das im Trockenschrank durch mehrstündiges Erhitzen auf 105° von geringen Spuren Feuchtigkeit befreit wurde. 4,9 g der so vorbereiteten Substanz wurden mit 2 ccm Toluol und 5 ccm Dimethylsulfat im Ölbad einige Stunden unter Umrühren auf 105 bis 110° erhitzt bis zum Verschwinden der orangegelben Farbe der Schmelze. Man verdünnte dann mit ungefähr 100 ccm Wasser, machte mit NaOH alkalisch und kochte kurze Zeit zur Zerstörung überschüssigen Dimethylsulfats. Der entstandene Nitroxylenoläther wurde durch mehrmaliges Ausschütteln mit Äther extrahiert. Die mit Wasser gewaschene Lösung wurde nach dem Trocknen mit Natriumsulfat verdampft und der Rückstand aus 7 ccm heißem Alkohol umkristallisiert. Es wurden erhalten 3,9 g blaßgelbe Kristalle. Smp. 80—80,5°. Ausbeute 87,5% der Theorie. (4,46 g). Das Eindampfen der Mutterlauge lieferte noch 300 mg weniger reines Produkt Smp. 71—72°. Gesamtausbeute ca. 93%.

Der Schmelzpunkt dieses Körpers wird in der Literatur mit 79° angegeben.

1,2-Dimethyl-4-nitro-5-methylamino-benzol.

1. 1,5 g 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-methoxy-benzol und 20 ccm alkoholische Methylaminlösung (33%) wurden im Bombenrohr 9—10 Stunden auf 160° erhitzt. Nach dem Erkalten hatte sich die Substanz in schönen dunkelroten Kristallen abgeschieden, die abgesaugt und mit Alkohol gewaschen wurden. Es entstanden 1,1 g Nitrobase Smp.: 139°.

Ausbeute 73,7% der Theorie (1,49 g).

Der Schmelzpunkt änderte sich durch Umkristallisieren nicht mehr. Als zweite Fraktion ließen sich noch 150 mg Smp.: 136,5 bis 138° gewinnen. Gesamtausbeute 84% d. Th.

2. 2 g 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-methoxy-benzol und 5 g alkoholische Methylaminlösung (33%) wurden 10 Stunden auf 160° er-

---

[11]) dargestellt nach E. Diepolder B. 42,2916.

[12]) beschr. von J. C. Cain u. J. L. Simonsen Soc. 105,163.

hitzt. Nach dem Erkalten wurde die auskristallisierte Nitrobase abgesaugt und mit Alkohol gewaschen. Es wurden erhalten 1,7 g Smp. 139°. Ausbeute 85,5% der Theorie (1,99).

5,6-Benzo-9-methyl-flavin.

1. α-Nitro-β-äthoxy-naphtalin.

In eine Lösung von 5 g β-Äthoxy-naphtalin in 20 ccm Eisessig wurden unter Kühlung 5,6 g Salpetersäure (1,395) eingetropft. Allmählich begann die Abscheidung eines hellgelben Körpers, wodurch sich die Flüssigkeit in einen dicken Brei verwandelte. Zum besseren Durchreagieren wurde mit 10 ccm Eisessig verdünnt und unter Umrühren bei Zimmertemperatur die Umsetzung eine Stunde fortgesetzt. Der entstandene Niederschlag wurde abgesaugt und mit dem kalten Lösungsmittel nachgewaschen. Die Menge des Rohproduktes (noch etwas feucht) betrug 6,2 g, das durch Umkristallisieren aus absolutem Alkohol 3,2 g reines Produkt vom Schmelzpunkt 103—104° lieferte. Ausbeute 50,7% der Theorie (6,3 g).

Durch Fällen der Mutterlauge mit 150 ccm Wasser ließen sich 2,5 g eines hellbraunen Körpers gewinnen, aus dem man beim Umkristallisieren aus 10 ccm absolutem Alkohol 1,1 g uneinheitliche Substanz Smp. 66—74° bekam. Die Mutterlauge kann also verworfen werden.

1b. 10 g Naphtoläther in derselben Weise nitriert ergaben 7,7 g. Rohprodukt Smp. 97—100°. Daraus wurden durch Umkristallisieren mit 20 ccm heißem Eisessig 6,3 g reine Substanz vom Smp. 103—104° erhalten.

Ausbeute 49,4% der Theorie (12,76 g).

c. 15 g Naphtoläther in 60 ccm Eisessig gelöst wurden unter Kühlung tropfenweise mit 16,2 g Salpetersäure (1,395) versetzt. Nach einstündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde abgesaugt und mit Eisessig gewaschen.

12,3 g trockenes Rohprodukt ergaben aus 25 ccm heißem Eisessig umkristallisiert 9,65 g. Nitroäther Smp. 103—104°. Ausbeute 51% der Theorie (18,9).

2. α-Nitro-β-methylamino-naphtalin.

a. 2,6 g α-Nitro-β-äthoxy-naphtalin und 10 g alkoholische Methylaminlösung (33%) wurden 10 Stunden auf 160° erhitzt. Beim Absaugen erhielt man 1 g Substanz vom Smp. 123—124°. Ausbeute 41% der Theorie (2,42).

b. Beim Erhitzen von 1,8 g Nitroäther und 5 g alkoholischer Methylaminlösung (33%) während 10 Stunden auf 140° entstan-

den 950 mg Nitrobase Smp. 124°. Ausbeute 57% der Theorie (1,7 g).

c. 6 g Nitroäther + 11 g alkoholische Methylaminlösung (33%) wurden 10 Stunden auf 130° erhitzt, die beim Erkalten sich in großen, roten Kristallen abscheidende Base wurde abgesaugt und 2—3 mal mit Alkohol gewaschen. Es wurden erhalten 4,75 g reine Substanz Smp. 124—125°. Ausbeute 85% der Theorie (5,5 g).

d. 2,65 g Nitroäther wurden unter denselben Bedingungen (wie bei c) umgesetzt und in derselben Weise aufgearbeitet. 2 g Nitrobase Smp.: 124—125°. Ausbeute 81% d. Th. (2,47). Der gefundene Schmelzpunkt stimmte mit dem in der Literatur angegebenen überein[13]).

α-Amino-β-methylamino-naphtalin-dichlorhydrat.

2 g α-Nitro-β-methylamino-naphtalin wurden in eine Lösung von 12,5 g Stannochlorid in 25 ccm conc. Salzsäure eingetragen. Da die Reaktion auch beim Erhitzen unvollständig blieb, wurden 10 ccm conc. Salzsäure und 5 g von dem Reductionsmittel hinzugegeben und erwärmt, bis alles in Lösung ging. Dann goß man das Ganze in abgekühlte Natronlauge (50%), die aus 70 g NaOH und 140 g H_2O bereitet war. Die abgeschiedene Base wurde durch mehrmaliges Ausschütteln mit Äther aufgenommen; die ätherische Lösung mit Wasser öfter gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Nach Einengen auf 80 ccm wurde das Chlorhydrat des Diamins durch Einleiten von trockenem Chlorwasserstoff gefällt. Das abgesaugte und mit Äther gewaschene Reaktionsprodukt ließ sich im Exsiccator leicht von kleinen Mengen anhaftendem Lösungsmittel und Salzsäure befreien. Es wurden erhalten 2,25 g. Substanz Smp. (n. Berl.) 201—204°. Ausbeute 93% der Theorie (2,42 g).

Zur Analyse wurde dreimal aus absolutem HCl-haltigem Äthanol umkristallisiert.

4,177 mg Sbst.: 8,21 mg CO_2, 2,20 mg H_2O.
4,551 mg Sbst.: 0,455 ccm N (24°, 745 mm).
4,265 mg Sbst.: 0,422 ccm N (24°, 745 mm).

$C_{11}H_{14}N_2Cl_2$ (245)	Ber.:	C 53,87	H 5,75	N 11,43	
	Gef.:	C 53,61	H 5,89	N 11,26	11,14

5,6-Benzo-9-methyl-flavin.

a. 500 mg α-Amino-β-methylamino-naphtalin-dichlorhydrat wurden in eine durch Erhitzen hergestellte Lösung von 550 mg Al-

[13]) R. Meldola u. J. H. Lane Soc. 85,1602.

loxantetrahydrat und 1 g Borsäure in 25 ccm Eisessig eingetragen, aus der beim Erkalten die Additionsverbindung der beiden Stoffe sich abgeschieden hatte. Nach einstündigem Stehen wurde schwach erwärmt und nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur in 500 ccm Wasser eingegossen. Der ausgefallene Farbstoff wurde durch Zentrifugieren von dem größten Teil der Flüssigkeit getrennt, mehrmals mit heißem Wasser gewaschen, und nach dem Absaugen mit Phosphorpentoxyd getrocknet. Es entstanden 380 mg Rohflavin. Ausbeute 67% der Theorie. Zur Analyse wurde aus konzentrierter und zweimal aus verdünnter Ameisensäure umkristallisiert, und bei 1 mm und 135° getrocknet (4—5 Stdn.).

4,442 mg Sbst.: 10,495 mg CO_2, 1,56 mg H_2O.
2,535 mg Sbst.: 0,452 ccm N (21°, 743 mm).

$C_{15}H_{10}N_4O_2$ (278,1) Ber.: C 64,72 H 3,63 N 20,14
Gef.: C 64,44 H 3,93 N 20,24

b. 200 mg Dichlorhydrat wurden in die erkaltete Lösung von 225 mg Alloxantetrahydrat und 450 mg Borsäure in 10—15 ccm Eisessig eingetragen und das Reaktionsgemisch 5 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Nun verdünnte man mit 15 ccm Wasser, ließ über Nacht stehen und schied dann durch weiteres Zusetzen von H_2O den Farbstoff vollständig aus. Das abgesaugte und über Phosphorpentoxyd getrocknete Reaktionsprodukt wog 100 mg Ausbeute 44% der Theorie (227 mg).
Durch Umkristallisieren aus verdünnter Ameisensäure wurden 60 mg Flavin erhalten.

c. 200 mg Dichlorhydrat gelöst in 10 ccm Wasser wurden mit einer Lösung von 220 mg Alloxantetrahydrat in 5 ccm desselben Lösungsmittels zum Sieden gebracht. Nach dem Erkalten wurde abgesaugt, mehrmals mit Wasser gewaschen und über Phosphorpentoxyd getrocknet.

Rohausbeute 150 mg Farbstoff = 66,1% d. Th. (227 mg).

Beim Umkristallisieren aus reiner Ameisensäure wurden aus 110 mg 90 mg reines Produkt erhalten. Das entspricht für 150 mg 123.

Ausbeute an umkristallisiertem Produkt 54,06% der Theorie (227 mg).

d. 1,2 g Dichlorhydrat wurde wie vorstehend (a+b) in eine Lösung von 1,6 g Alloxantetrahydrat und 3,2 g Borsäure in 50 bis 60 ccm Eisessig eingetragen und auf der Maschine 16 Stunden geschüttelt. Nach dem Verdünnen mit Wasser auf 260 ccm und Stehen über Nacht wurde abgesaugt und öfter mit H_2O kalt und

heiß gewaschen. Das weitere Zusetzen von Wasser (bis 750 ccm) lieferte noch 300 mg Substanz. Es wurden erhalten an trockenem Rohprodukt 1,05 g = 77% der Theorie (1,36).
Das Umkristallisieren aus Ameisensäure ergab aus beiden Fraktionen 480 mg Flavin = 35,5% d. Th. Aus der auf 2 L. verdünnten Mutterlauge ließ sich noch ein Teil mit Chloroform ausschütteln. Das weitere Extrahieren blieb trotz deutlicher Färbung erfolglos.

1,2-Dimethyl-4-nitro-5-methylaminobenzol und 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-oxyäthylaminobenzol.

1. 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-allyloxy-benzol.

4 g 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-oxy-benzol, 4,5 g Aceton, 4 g wasserfreies Kaliumkarbonat und 4,5 g Allylbromid wurden im Ölbad 30—35 Stunden zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten setzte man Wasser mit Äther hinzu, wusch die ätherische Lösung 3 mal mit 2n. Natronlauge, dann mit Wasser und trocknete mit Kaliumcarbonat. Das beim Verdampfen des Lösungsmittels erhaltene Öl erstarrte beim Abkühlen unter der Wasserleitung zu einer gut kristallisierten, blaßgelben, fast farblosen Masse. Es entstanden 4,6 g Nitroäther. Smp.: 51,5—52,5°. Ausbeute 93% d. Th. (4,96 g). Zum Umkristallisieren eignete sich Benzin, wodurch der Schmelzpunkt auf 52,5—53° erhöht wurde. Beim weiteren Reinigen durch Umlösen aus 15 bis 20 Teilen des Lösungsmittels blieb der Schmelzpunkt konstant.
4,091 mg Sbst.: 9,58 mg CO_2, 2,38 mg H_2O.
4,498 mg Sbst.: 10,51 mg CO_2, 2,545 mg H_2O.
4,676 mg Sbst.: 0,273 ccm N (21°, 747 mm).
$C_{11}H_{13}NO_3$ (207,1)

Ber.:	C 63,77		H 6,33		N 6,76
Gef.:	C 63,88	63,66	H 6,33	6,51	N 6,64

2. 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-methylaminobenzol.

1 g 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-allyloxy-benzol wurden mit 2 g alkoholischer Methylaminlösung (33%) 8 Stunden auf 130° erhitzt. Die Nitrobase war nach dem Erkalten schön auskristallisiert. Die Substanz wurde abgesaugt, mit Alkohol gewaschen und getrocknet. Es konnten so 800 mg Nitrobase gewonnen werden. Smp. 139°. Ausbeute 92% d. Th. (869 mg).

3. 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-oxyäthylamino-benzol.

1 g 1,2-Dimethyl-4-nitro-5-allyloxy-benzol wurde in derselben Weise mit 0,6 g Aminoäthylalkohol in 3 ccm Alkohol erhitzt. Die in kleinen gelbroten Kristallen abgeschiedene Base wurde wieder abgesaugt und mit Alkohol gewaschen. Erhalten wurden 580 mg an lufttrockenem Produkt. Smp. 188,5—189°.
Ausbeute gleich 56% der Theorie.

Zur Analyse wurde aus absolutem Alkohol umkristallisiert und 2—3 mal mit Benzin ausgekocht.

4,027 mg Sbst.: 8,46 mg CO_2, 2,47 mg H_2O.
4,017 mg Sbst.: 0,462 ccm N (23°, 749 mm).

$C_{10}H_{14}N_2O_3$ (210,1) Ber.: C 57,14 H 6,71 N 13,3
Gef.: C 57,3 H 6,86 N 13,07

Umsetzung von Alloxazin mit Phosphoroxychlorid.

2 g Alloxazin und 20 g Phosphoroxychlorid wurden im Einschlußrohr 4—5 Stunden auf 140° erhitzt. Bei der Reaktion entstand eine zähflüssige Schmelze von intensiv dunkelgrüner Farbe, die unter schwachem Erwärmen in ein Schliffkölbchen umgefüllt wurde, aus dem man das $POCl_3$ im Vakuum auf dem Wasserbade abdampfte. Beim Versetzen mit kaltem Wasser schlug die grüne Farbe nach tief dunkelblau um. Nach 2—3 Stunden wurde der abgeschiedene amorphe Farbstoff abgesaugt und mit Wasser öfter gewaschen. Durch mehrmaliges Lösen in conc. Schwefelsäure und Fällen durch Verdünnen mit Wasser wurde gereinigt. Aus 2 g Alloxazin wurden so 1,9 g trockener Farbstoff erhalten. Zur Analyse wurde aus heißer Ameisensäure umkristallisiert, wobei die sehr dunkle Farbe der Lösung die Erkennung noch ungelöster Substanz erschwerte.

4,754 mg Sbst.: 8,71 mg CO_2, 1,02 mg H_2O.
4,834 mg Sbst.: 8,85 mg CO_2, 1,09 mg H_2O.
2,204 mg Sbst.: 0,436 ccm N (20°, 751 mm).
2,321 mg Sbst.: 0,457 ccm N (20°, 754 mm).

C 49,97 49,92 H 2,40 2,52 N 22,77 22,73

Der positive Ausfall der Beilstein-Probe an der reinen Substanz ergab die Anwesenheit von Chlor. Die Karius-Bestimmung lieferte folgende Werte:

6,580 mg Sbst.: 4,12 mg AgCl 15,49% Cl.

Lebenslauf.

Am 13. 3. 1908 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Christoph Reinemund und seiner Ehefrau Wilhelmine geb. Hamer zu Melsungen geboren. Nach dem Besuch der Volksschule ging ich zum Villmarschen Institut, dem heutigen Kreisrealreformgymnasium zu Melsungen. Seit Ostern 1925 besuchte ich die Oberrealschule I, die heutige Adolf Hitler-Oberrealschule zu Kassel, die ich im März 1928 mit dem Zeugnis der Reife verlassen konnte. Vom Sommer-Semester 1928 ab widmete ich mich dem Studium der Chemie an der Universität Frankfurt a. M. Am dortigen chemischen Institut legte ich Ende Januar 1932 das erste, Ende Februar 1934 das zweite Verbandsexamen ab. Von Juni 1934 bis Juli 1936 arbeitete ich dann in der chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts für medizinische Forschung in Heidelberg unter Leitung von Herrn Prof. Dr. R. Kuhn. Die vorliegende Dissertation enthält einen Teil der von mir während dieser Zeit durchgeführten Arbeiten.

Meine sonstigen akademischen Lehrer waren: Borsche, Bonhoeffer, v. Braun, G. Hahn, Küster, Laibach, A. Magnus, Overbeck, R. Schwarz, Wachsmuth.

Für freundliche Unterstützungen und Anregungen in Forschung und Lehre bin ich ihnen allen zu Dank verpflichtet.

Herrn Professor Dr. W. Borsche danke ich außerdem für die Uebernahme des Referates.

Karl Reinemund.